

**ISOLASI BAKTERI SELULOLITIK DARI JERAMI PADI DAN UJI
AKTIVITAS ENZIM SELULASE PADA BERBAGAI SUBSTRAT**

SKRIPSI

Oleh:

MUNAWARATUN NADHIFAH

NIM. 16620078



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**ISOLASI BAKTERI SELULOLITIK DARI JERAMI PADI DAN UJI
AKTIVITAS ENZIM SELULASE PADA BERBAGAI SUBSTRAT**

SKRIPSI

Oleh:

MUNAWARATUN NADHIFAH

NIM. 16620078

Diajukan Kepada:

Fakultas Sains dan Teknologi

**Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

PROGRAM STUDI BIOLOGI

FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2021

**ISOLASI BAKTERI SELULOLITIK DARI JERAMI PADI DAN UJI
AKTIVITAS ENZIM SELULASE PADA BERBAGAI SUBSTRAT**

SKRIPSI

Oleh:

MUNAWARATUN NADHIFAH

NIM. 16620078

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji:

Tanggal 24 Mei 2021

Pembimbing I



Ir. Liliek Harianie AR, M. P
NIP. 19620901 199803 2 001

Pembimbing II



Oky Bagus Prasetyo, M.Pd.I
NIDT. 19890113 20180201 1 244

Mengetahui,

Ketua Program Studi Biologi







Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

**ISOLASI BAKTERI SELULOLITIK DARI JERAMI PADI DAN UJI
AKTIVITAS ENZIM SELULASE PADA BERBAGAI SUBSTRAT**

SKRIPSI

**Oleh:
MUNAWARATUN NADHIFAH
NIM. 16620078**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal 24 Mei 2021**

Ketua Penguji	:	<u>Dr. H. Eko Budi Minarno, M.Pd</u> NIP. 19630114 199903 1 001	()
Anggota Penguji	:	<u>Prilya Dewi Fitriyani, M.Sc</u> NIDT. 19900428 2016080 1 2062	()
Anggota Penguji	:	<u>Ir. Liliek Harianie A.R, M.P</u> NIP. 19620901 199803 2 001	()
Anggota Penguji	:	<u>Okky Bagus Prasetyo, M.Pd.I</u> NIDT. 19890113 20180201 1 244	()



**Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi**

**Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002**

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil 'aalaamiin...

Dengan mengucapkan syukur yang mendalam kepada Allah SWT yang telah memberikan kekuatan dan kemudahan

Karya skripsi ini saya persembahkan untuk:

Bapak Nuruddin Ibnu Salamun dan Ibu Siti Khoiriyah yang selalu mendo'akan yang terbaik untuk kesuksesan anak-anaknya, dengan do'a dan dorongan bapak ibu saya dapat menyelesaikan skripsi ini

Bapak Sabilurrosyad dan Ibu Zahro yang senantiasa membimbing dan mendo'akan santri-santrinya tiada henti

Ibu Liliek Harianie dan Bapak Oky Bagus Prasetyo selaku dosen pembimbing yang sabar dalam membimbing hingga terselesaikannya skripsi ini

Kakak tercinta Muhammad Azizul Ghofar yang senantiasa memberi semangat dan memotivasi untuk mencapai target kelulusan adiknya

Teman-teman PPAP Nurul Ummah terutama Mbak Merry, Mbak Muz, Mbak Diah, Andita, Dinda, Irnadiatz, Fenina, Ema dan Ilmi yang selalu menemani dan memberi semangat dalam menyelesaikan skripsi ini

Sahabat sejati dari Mabna Asma' binti Abi Bakar kamar 34 Unni Binti, Willa, Nunung, Tami, Adiva, Syilfi, Seli, Tika, Desire, Fazira dan pus meng-meng yang tiada henti memberi dukungan sejak MABA hingga semester ini

Teman-teman sepermainan Willa, Rima, Ima, Furda, Binti dan Ziyah yang senantiasa menemani dalam suka dan duka

Teman-teman Big Family Bio C dan Gading Putih 2016 terutama Tiyas, Tantika, Andita, Hanis, Sri, dan Reta yang telah memberi warna -warni persahabatan yang tak terlupakan

Teman-teman peneliti di Lab Mikrobiologi terutama Ilmi, Susi, Tantika, Tiyas, Radhwa, Datus, Happy, Lisca, Lila, Rika dan Novi yang sukarela membantu dalam mengatasi semua persoalan penggunaan alat maupun metode penelitian, hingga terselesaikannya penelitian dan skripsi ini

Semoga karya tulis ini akan terkenang, dapat bermanfaat untuk orang lain dan barokah dunia akhirat.

Aamiin

MOTTO

“Kehidupan yang didasarkan pada
Adab dan Ilmu Pengetahuan
adalah Karunia Allah yang terindah”



PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Munawaratun Nadhifah
NIM : 16620078
Fakultas : Sains dan Teknologi
Program Studi : Biologi
Judul Penelitian : Isolasi Bakteri Selulolitik dari Jerami Padi dan Uji
Aktivitas Enzim Selulase pada Berbagai Substrat

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa penelitian ini tidak terdapat unsur plagiasi atau penjiplakan karya ilmiah atau penelitian yang pernah dilakukan oleh orang lain, kecuali secara tertulis dikutip dalam naskah dan disebutkan dalam sumber kutipan atau daftar pustaka. Apabila hasil penelitian ini terbukti terdapat unsur penjiplakan, maka saya bersedia untuk mempertanggung jawabkan serta diproses dengan peraturan yang berlaku.

Malang, 29 April 2021

Yang membuat pernyataan



Munawaratun Nadhifah

NIM.16620078

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk kalangan umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar pustaka diperkenankan untuk dicatat, namun pengutip hanya dapat melakukan dengan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Isolasi Bakteri Selulolitik dari Jerami Padi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Berbagai Substrat”**. Sholawat serta salam selalu terpanjatkan kepada Nabi besar Muhammad SAW yang telah memberikan bimbingan menuju jalan kehidupan yang *rahmatat lil alamin*.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari dorongan dan uluran tangan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ir. Hj. Liliek Harianie A.R, M.P sebagai dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, pengarahan dan nasehat kepada penulis dalam penyusunan skripsi.
5. Oky Bagus Prasetyo, M.Pd.I selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan saran dalam penulisan integrasi dan dalam kajian keagamaan.
6. Dr. H. Eko Budi Minarno, M.Pd selaku penguji utama yang telah memberikan masukan, kritik, dan bimbingan dalam perbaikan skripsi.
7. Prilya Dewi Fitriasaki, M.Sc selaku ketua penguji yang telah memberikan bimbingan dan arahan dalam penyusunan skripsi.
8. Prof. Dr. Hj. Retno Susilowati, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan bimbingan dan memotivasi penulis agar tetap semangat dalam menempuh studi hingga akhir.
9. Bapak, Ibu, kakak, dan semua keluarga tercinta yang selalu membantu dan mendampingi dengan penuh kasih sayang serta selalu memberikan do'a kepada penulis hingga tercapainya gelar sarjana.

10. Teman-teman dari PPAP Nurul Ummah yang selalu memberi do'a, motivasi dan semangat.
11. Seluruh teman-teman kelas Biologi C dan Biologi 2016, yang berjuang bersama-sama menyelesaikan studi sampai memperoleh gelar S.Si.
12. Semua pihak yang telah banyak membantu penulis sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi para pembaca pada umumnya. Semoga Allah *Subhanahu wa Ta'ala* senantiasa memberikan ilmu yang bermanfaat dan melimpahkan Rahmat dan Ridho-Nya. *Aamiin Yaa Allah Ya Rabbal'alamiin.*

Malang, 29 April 2021

Penulis



DAFTAR ISI

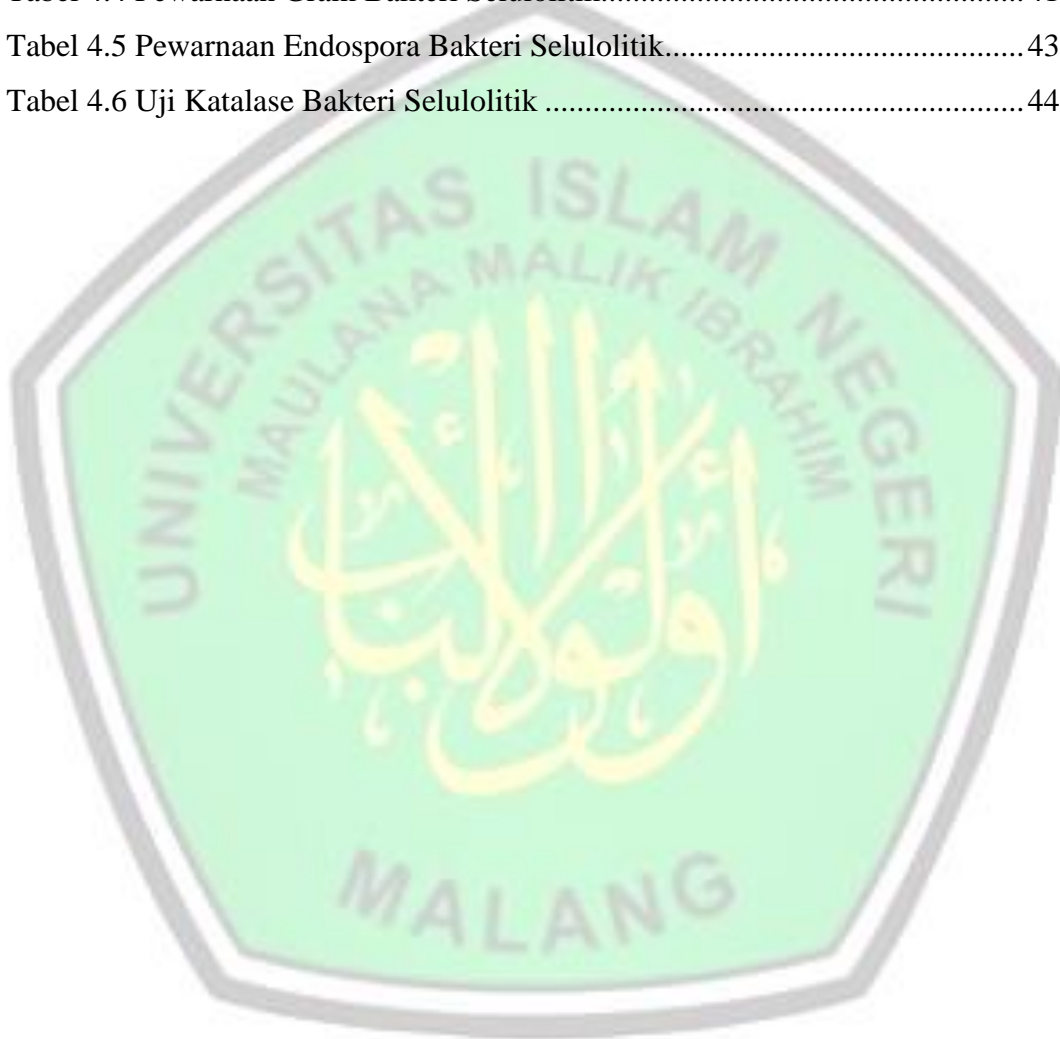
HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGAJUAN	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
MOTTO	v
HALAMAN PERNYATAAN	vi
PEDOMAN PENGGUNAAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
ملخص البحث	xvii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan Penelitian	8
1.4 Manfaat Penelitian	8
1.5 Batasan Masalah	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Bakteri Selulolitik	10
2.2 Jerami Padi (<i>Oryza sativa</i>)	11
2.3 Selulosa	12
2.4 Hidrolisis Selulosa	13
2.5 Enzim	15
2.6 Enzim Selulase	16
2.7 Faktor Genetika Aktivitas Enzim Selulase	17
2.8 Substrat	18
2.9 Uji Aktivitas Enzim Selulase dengan Metode DNS	20
2.10 Kurva Pertumbuhan Bakteri Selulolitik	21
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian	23
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.3 Alat dan Bahan	23
3.3.1 Alat	23
3.3.2 Bahan	24
3.4 Prosedur Penelitian	24
3.4.1 Preparasi Alat	24
3.4.2 Preparasi Sampel Jerami Padi	24
3.4.3 Isolasi Bakteri	24
3.4.4 Pemurnian Bakteri Selulolitik	25

3.4.4.1 Karakterisasi Morofologi.....	25
3.4.5 <i>Screening</i> dan Uji Aktivitas Bakteri Selulolitik	25
3.4.6 Uji Aktivitas Enzim Selulase.....	26
3.4.7 Identifikasi Morfologi dan Uji Katalase.....	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Isolasi Bakteri Selulolitik dari Jerami Padi	30
4.1.1 Karakterisasi Morofologi Bakteri.....	32
4.2 Uji Aktivitas Bakteri Selulolitik.....	32
4.2.1 Uji Aktivitas Enzim Selulase.....	35
4.2.1.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri	35
4.2.1.2 Penentuan Aktivitas Enzim Selulase dengan Metode DNS	36
4.2.1.3 Aktivitas Enzim Selulase pada Berbagai Jenis Substrat.....	37
4.3 Identifikasi Bakteri Selulolitik.....	40
4.4 Kedudukan Bakteri Selulolitik dalam Perspektif Al-Qur'an.....	45
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	48
5.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN.....	55



DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Konsentrasi Larutan Glukosa.....	27
Tabel 4.1 Karakter Morfologi Bakteri dari Jerami Padi	32
Tabel 4.2 Zona Bening Bakteri Selulolitik	33
Tabel 4.3 Data Aktivitas Enzim Selulase pada Berbagai Jenis Substrat.....	38
Tabel 4.4 Pewarnaan Gram Bakteri Selulolitik.....	41
Tabel 4.5 Pewarnaan Endospora Bakteri Selulolitik.....	43
Tabel 4.6 Uji Katalase Bakteri Selulolitik	44



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Proses Hidrolisis Selulosa	14
Gambar 2.2 Hubungan Aktivitas Enzim dengan Suhu	15
Gambar 2.3 Hubungan Aktivitas Enzim dengan pH.....	16
Gambar 2.4 Hubungan Kecepatan Reaksi dengan Konsentrasi Enzim	16
Gambar 2.5 Kurva Pertumbuhan Bakteri Selulolitik	21
Gambar 4.1 Bentuk Koloni Bakteri Hasil Isolasi.....	30
Gambar 4.2 Bentuk Koloni Bakteri Pemurnian Isolat Bakteri Selulolitik.....	30
Gambar 4.3 Grafik Aktivitas Bakteri Selulolitik	34
Gambar 4.4 Zona Bening Bakteri Selulolitik.....	34
Gambar 4.5 Grafik Kurva Pertumbuhan Bakteri Selulolitik	35
Gambar 4.6 Kurva Standar Glukosa	37
Gambar 4.7 Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Selulolitik	41
Gambar 4.8 Hasil Pewarnaan Endospora Bakteri Selulolitik	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	55
Lampiran 2. Aktivitas Bakteri Selulolitik	56
Lampiran 3. Aktivitas Enzim Selulase	56
Lampiran 4. Analisis Statistika Aktivitas Selulolitik	59
Lampiran 5. Analisis Statistika Aktivitas Enzim Selulase	60
Lampiran 6. Dokumentasi	60



Isolasi Bakteri Selulolitik dari Jerami Padi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Berbagai Substrat

Munawaratun Nadhifah, Liliek Harianie, dan Oky Bagus Prasetyo

ABSTRAK

Bakteri selulolitik memiliki kemampuan menghasilkan enzim selulase yang bekerja dalam menguraikan selulosa menjadi gula sederhana berupa glukosa. Bakteri selulolitik memiliki habitat yang kaya selulosa, salah satunya pada limbah jerami padi. Isolasi bakteri selulolitik dari jerami padi penting dilakukan karena memiliki kandungan selulosa yang tinggi (37,71%) sehingga dapat dimanfaatkan sektor industri sebagai penghasil enzim selulase. Aktivitas enzim selulase oleh bakteri selulolitik diuji melalui tiga macam substrat (bekatul, dedak dan onggok). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri selulolitik dari jerami padi, mengetahui aktivitas enzim selulase pada substrat (bekatul, dedak dan onggok) serta mengidentifikasi bakteri selulolitik. Penelitian ini termasuk penelitian deskriptif dengan mengisolasi bakteri selulolitik menggunakan metode *streak plate*. Uji aktivitas enzim selulase menggunakan pewarna *Congo red* ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening pada media CMC (*Carboximethyl cellulose*) dilanjutkan dengan metode *3,5-Dinitrosalicylic acid* (DNS) dan diuji aktivitas enzim selulase pada substrat bekatul, dedak dan onggok. Identifikasi bakteri dilakukan dengan pengamatan secara morfologi dan uji katalase hingga diperoleh tingkat genus menggunakan panduan *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology 9th*. Hasil penelitian menunjukkan terbentuknya indeks selulolitik pada seluruh isolat, dan diperoleh hasil tertinggi pada isolat JR 3 sebesar 0,94 cm. Aktivitas selulase tertinggi berdasarkan uji kuantitatif ditunjukkan isolat JR 3 tertinggi pada substrat dedak sebesar $316,6 \times 10^{-4}$ U/mL. Berdasarkan analisis karakteristik isolat bakteri termasuk dalam genus *Neisseria*.

Kata Kunci: bakteri selulolitik, enzim selulase, aktivitas enzim

Isolation of Cellulolytic Bacteria from Rice Straw and Test Cellulase Enzyme Activity on Various Substrates

Munawaratun Nadhifah, Liliek Harianie, and Oky Bagus Prasetyo

ABSTRACT

Cellulolytic bacteria have the ability to produce cellulase enzymes that work in breaking down cellulose into simple sugars in the form of glucose. Cellulolytic bacteria have a cellulose habitat, one of which is rice straw waste. Isolation of cellulolytic bacteria from rice straw is important because it has high cellulose content (37.71%) so that it can be used by the industrial sector as a producer of cellulase enzymes. Cellulase enzyme activity by cellulolytic bacteria was tested through three kinds of substrates (bekatul, dedak and onggok). This study aims to isolate cellulolytic bacteria from rice straw, determine the activity of cellulase enzymes on substrates (bekatul, dedak and onggok) and identify cellulolytic bacteria. This research was a descriptive study by isolating cellulolytic bacteria using the streak plate method. The cellulase enzyme activity test using *Congo red* dye was indicated by the formation of a clear zone on CMC (*Carboximethyl cellulose*) media followed by the *3,5-Dinitrosalicylic acid* (DNS) method and the cellulase enzyme activity was tested on bekatul, dedak and onggok substrates. Bacterial identification was carried out by morphological observation and catalase test to obtain the genus level using the 9th *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology*. The results showed the formation of a cellulolytic index in all isolates, and the highest result was obtained in JR 3 isolates of 0.94 cm. The highest cellulase activity based on quantitative tests was shown by the highest JR 3 isolate on dedak substrate at 316.6×10^{-4} U/mL. Based on the analysis of the characteristics of the bacterial isolates included in the genus *Neisseria*.

Keywords: cellulolytic bacteria, cellulase enzymes, enzyme activity

عزل بكتيريا السيلولوتيك من قش الأرز واختبار نشاط إنزيم السليولاز على ركائز مختلفة

منورة النافذة، ليليك حرياني، أوكي بكاس فراستيو

ملخص البحث

القدرة لبكتيريا السيلولوتيك على إنتاج إنزيمات السليولاز التي تعمل بطريقة معقدة لكسر السليولاز إلى جلوكوز. تعيش بكتيريا السيلولوتيك طبيعياً وتزدهر في الموائل الغنية بالسليولاز، أحدها قش الأرز. وقش الأرز يحتوي على نسبة عالية من السليولاز (٣٧.٧١ %) ويمكن استخدامه من قبل القطاع الصناعي كمنتج لأنزيمات السليولاز. تم اختبار نشاط إنزيم السليولاز بواسطة البكتيريا المحللة للسليول من خلال ثلاثة أنواع من الركائز (النخالة الأرز و النخالة و الأونجوك). الهدف هذا البحث لمعرفة جنس بكتيريا السيلولوتيك في قش الأرز ونشاط إنزيم السليولاز على ركائز (النخالة الأرز و النخالة و الأونجوك) والتعرف على البكتيريا السيلوليت. يشمل هذا البحث البحث الوصفية بعزل البكتيريا السيلوليتيك بطريقة الألواح الخطية (*streak plate*). إجراء اختبار نشاط إنزيم السليولاز بواسطة صبغة *Congo red* التي أظهرها تكوين مناطق واضحة على وسط *CMC* (*Carboxymethyl cellulose*) متبوعاً بطريقة *3,5-Dinitrosalicylic acid* (*DNS*) واختبار نشاط إنزيم السليولاز على ركيزة النخالة الأرز و النخالة و الأونجوك. تم التعرف على البكتيريا من خلال الملاحظة المورفولوجية واختبار الكاتلاز حتى تم الحصول على مستوى الجنس باستخدام دليل بيرجي (*Bergeys Manual of Determinative Bacteriology 9th*). دلت النتيجة على تكوين مؤشر السيلولوتيك في جميع العزلات، وكان أعلى محصول في عزلة JR 3 يبلغ ٠.٩٤ سم. أظهر أعلى نشاط سلولاز بناء على الاختبار الكمي أن أعلى عزلة JR 3 كانت على طبقة النخالة عند 316.6×10^{-4} وحدة/مل. بناء على تحليل الخصائص العزلات البكتيرية تنتمي إلى جنس النيسيرية.

الكلمات الأساسية : بكتيريا السيلولوتيك، إنزيم السليولاز، نشاط إنزيم

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Allah SWT berfirman dalam Q.S Al-Baqarah ayat 26:

إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا ۚ فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ
مِنْ رَبِّهِمْ ۖ وَأَمَّا الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا ۚ يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا ۖ وَيَهْدِي بِهِ
كَثِيرًا ۚ وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا الْفَاسِقِينَ

Artinya: “*Sesungguhnya Allah tiada segan membuat perumpamaan berupa nyamuk atau yang lebih rendah dari itu. Adapun orang-orang yang beriman, mereka yakin bahwa perumpamaan itu benar dari Tuhan mereka, tetapi mereka yang kafir mengatakan: ‘Apakah maksud Allah menjadikan ini untuk perumpamaan?’ Dengan perumpamaan itu banyak orang yang disesatkan Allah, dan dengan perumpamaan itu (pula) banyak orang yang diberi-Nya petunjuk. Dan tidak ada yang disesatkan Allah kecuali orang-orang yang fasik*”

Berdasarkan tafsir Kementerian Agama RI (2006) disebutkan bahwa ayat tersebut menjelaskan tentang kekuasaan Allah dalam menciptakan segala bentuk perumpamaan, baik dari sesuatu yang lebih besar maupun yang lebih kecil dari nyamuk. Orang-orang beriman yakin dan mempercayai ada hikmah di balik perumpamaan itu antara lain sebagai petunjuk, bimbingan dan ujian bagi manusia. Sedangkan orang-orang kafir meremehkan dan bertanya-tanya dengan nada sinis tentang alasan Allah menciptakan perumpamaan makhluk hidup yang dianggapnya sederhana. Orang-orang kafir yang disesatkan Allah melalui perumpamaan-perumpamaan itu karena enggan merenungkannya.

Berdasarkan tafsir Al-Misbah (2002) juga disebutkan bahwa setiap perumpamaan dalam Al-Qur’an memiliki peranan yang besar dalam penyampaian pesan Allah kepada manusia. Perumpamaan yang dimaksud dapat dikategorikan dalam jenis penampakan makhluk hidup yang beraneka ragam. Makhluk hidup

merupakan organisme hidup yang memiliki ciri khusus untuk bertahan dan melestarikan kehidupannya. Secara garis besar makhluk hidup terbagi atas makroorganisme dan mikroorganisme. Makroorganisme merupakan organisme yang berukuran besar seperti manusia, hewan dan tumbuhan sedangkan mikroorganisme berukuran sangat kecil (mikroskopis) seperti bakteri, fungi dan *yeast* sehingga dalam proses pengamatannya harus menggunakan bantuan alat berupa mikroskop.

Mikroorganisme terbagi atas berbagai jenis dengan karakter yang berbeda-beda, salah satunya adalah bakteri. Bakteri merupakan mikroorganisme bersel satu yang hidup di berbagai tempat dalam berbagai keadaan. Beberapa jenis bakteri berperan sebagai organisme perusak dan membahayakan atau disebut dengan patogen. Namun selain itu banyak pula jenis bakteri yang memiliki peran yang baik bagi lingkungan, pangan dan kesehatan (probiotik).

Bakteri selulolitik adalah bakteri yang dapat menghasilkan enzim selulase dengan mekanisme hidrolisis selulosa menjadi produk sederhana berupa glukosa (Arifin *et al.*, 2019). Sesuai dengan pernyataan Nofu *et al.*, (2014) bahwa bakteri selulolitik berperan sebagai penghasil enzim selulase sehingga mampu mendegradasi selulosa melalui proses pemecahan selulosa menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu glukosa. Pemilihan bakteri sebagai subjek sumber enzim dikarenakan sel bakteri lebih mudah ditumbuhkan dan produksinya tidak tergantung dengan pergantian musim seperti pada tumbuhan. Selain itu, produksi masa bakteri relatif lebih cepat dan mudah daripada mikroorganisme lain seperti fungi (Poernomo, 2003).

Bakteri selulolitik tumbuh secara alami pada substrat bahan organik yang mengandung selulosa seperti serasah daun, olahan pertanian dan limbah hasil pertanian (Arifin *et al.*, 2019). Selulosa merupakan komponen penyusun tumbuhan yang menempati hampir 60% dan disintesis oleh tanaman dalam bentuk karbohidrat. Selulosa dapat dimanfaatkan dalam berbagai hal terutama dengan kandungan yang cukup tinggi (Han & Chen, 2007). Menurut Kurniawan *et al.*, (2019) selulosa termasuk salah satu polimer yang sangat melimpah di alam, namun pemanfaatannya sebagai bahan organik kurang maksimal karena

rendahnya nilai cerna sehingga dimungkinkan dapat diperbaiki dengan proses dekomposisi melalui peran bakteri selulolitik.

Penciptaan seluruh makhluk hidup di alam sesuai dengan hukum keseimbangan, salah satunya dengan adanya objek penguraian limbah atau dekomposer. Menurut Agus *et al.*, (2014) cukup banyak jenis mikroba dekomposer selulolitik yang memiliki kemampuan tinggi dalam mendegradasi limbah dari bahan organik yang memiliki kandungan selulosa. Selulosa didegradasi oleh enzim selulase melalui proses metabolisme mikroba. Enzim selulase berfungsi dalam menurunkan kandungan molekul selulosa yang tidak larut menjadi disakarida sederhana ataupun monosakarida yang dapat larut sehingga bisa digunakan oleh mikroba sebagai sumber energi (Lymar *et al.*, 1995).

Enzim selulase memiliki banyak manfaat terutama pada bidang industri dan lingkungan. Beberapa industri pangan menggunakan enzim selulase untuk meningkatkan kualitas pangan, selain itu dapat digunakan sebagai dekomposer bahan organik dan meningkatkan nutrisi pakan pada hewan ternak. Menurut Fitri *et al.*, (2017) enzim selulase dapat digunakan untuk membantu proses produksi kertas, kain, makanan, dan obat-obatan. Sedangkan pada bidang lingkungan enzim mampu menguraikan limbah tanaman hingga menghasilkan gula fermentasi. Pernyataan Kirk (2002) dalam Nababan *et al.*, (2019) bahwa enzim selulase dapat diaplikasikan pada industri kertas yaitu untuk menghaluskan bubur kertas, sedangkan pada industri tekstil digunakan untuk menjaga warna dan kecerahan kain. Menurut Fan *et al.*, (2006) enzim selulase secara anaerob dapat dimanfaatkan untuk produksi bioetanol yaitu perubahan biomassa menjadi biofuel dengan proses fermentasi atau dapat digunakan pada proses pembuatan alkohol sebagai pengganti bahan kimia yang mengandung selulosa.

Kebutuhan enzim selulase semakin tinggi sedangkan harga enzim di pasaran cukup mahal (Fitri *et al.*, 2017). Enzim selulase merupakan salah satu alternatif untuk menangani limbah pertanian secara biologi (Meryandini *et al.*, 2009). Ketersediaan selulosa di alam diperoleh dari hasil sisa pertanian yang sangat melimpah antara lain kulit jagung, gandum, kulit tebu dan jerami padi.

Jerami padi memiliki kandungan selulosa sebanyak 37,71%; hemiselulosa 21,99%; dan lignin (Pratiwi *et al.*, 2016). Oleh sebab itu dilakukan penelitian dengan memanfaatkan limbah jerami padi yang mengandung selulosa cukup tinggi sehingga berpotensi dalam produksi enzim selulase. Menurut Rhofita (tanpa tahun) disebutkan bahwa di Indonesia pemanfaatan jerami padi terbatas, hanya pada bidang pertanian untuk pupuk organik, dan pada bidang peternakan untuk pakan ternak, sedangkan pemanfaatan pada bidang industri dan energi belum optimal.

Pemanfaatan jerami padi umumnya hanya dimanfaatkan sebagai campuran bahan makanan bagi hewan ternak, karena tingginya kandungan serat kasar sehingga sulit dicerna oleh ternak ruminansia. Sebagian besar jerami padi dibiarkan membusuk atau dilakukan pembakaran secara masal sehingga mengakibatkan pencemaran udara dan kerusakan tanah persawahan. Sesuai dengan pernyataan Tommy *et al.*, (2014) pembakaran jerami padi pada lahan sawah dalam jangka panjang dapat merusak kualitas tanah baik secara fisik, biologi maupun kimia tanah. Penanganan limbah jerami padi yang memiliki kandungan selulosa cukup tinggi dapat digunakan sebagai alternatif penghasil enzim selulase dari hasil metabolisme mikroorganisme didalamnya. Menurut Razie *et al.*, (2011) beberapa kelompok mikroba dari bakteri selulolitik yang berperan dalam proses dekomposisi antara lain *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Clostridium* dan lain-lain.

Penelitian dilakukan dengan memanfaatkan limbah pertanian yaitu jerami padi yang diisolasi untuk diperoleh bakteri selulolitik kemudian ditumbuhkan pada media CMC (*Carboxymethyl Cellulose*). Penggunaan media CMC dikarenakan adanya kandungan selulosa yang cukup menunjang aktivitas reaksi enzimatik. Selain itu, media CMC juga mengandung sumber karbon yang berfungsi sebagai sumber energi dan unsur utama dalam pembentukan sel (Meryandini *et al.*, 2010). Penggunaan media CMC merupakan substrat terbaik dalam proses sintesis enzim selulase. Produksi enzim selulase akan optimal dengan menggunakan CMC dengan konsentrasi 1% (Nababan *et al.*, 2019). Bakteri yang dapat tumbuh pada media selektif CMC merupakan indikasi bahwa

bakteri tersebut dapat memanfaatkan selulosa sebagai media tumbuh dan nutrisi untuk kehidupannya (Kurniawan *et al.*, 2009).

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri selulolitik dari jerami padi. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas enzim selulase dari isolat bakteri terbaik pada berbagai substrat yang memiliki kandungan selulosa yang berbeda, serta dilakukan identifikasi jenis bakteri sampai tingkat genus pada isolat dengan aktivitas hidrolisis tertinggi. Substrat yang digunakan merupakan bahan pokok pakan ternak yang umumnya dipakai oleh masyarakat. Bahan pokok pakan ternak pada umumnya hanya digunakan sebagai campuran pakan karena kandungan serat yang tinggi sehingga sulit dicerna oleh usus halus pada hewan ternak. Bahan pokok pakan ternak tersebut digunakan sebagai substrat untuk media pertumbuhan bakteri sehingga akan terjadi proses hidrolisis oleh enzim selulase. Peran dari enzim selulase adalah menguraikan produk selulosa pada pakan ternak tersebut menjadi lebih sederhana sehingga diharapkan mampu menurunkan kadar serat dan meningkatkan nilai cerna pada hewan ternak.

Bahan pokok pakan ternak yang digunakan sebagai substrat antara lain dedak, bekatul dan onggok. Bekatul selama ini masih dimanfaatkan sebagai ransum pakan ternak atau sebagai campuran konsentrat. Menurut Luthfianto *et al.*, (2017) pemanfaatan bekatul sebagai pakan ternak sebenarnya memiliki kelemahan yaitu bekatul yang digunakan harus dalam kondisi segar agar diperoleh nilai gizi dan nutrisi yang baik karena bekatul mudah rusak oleh aktivitas hidrolitik dan oksidatif sehingga merusak senyawa bioaktif dari bekatul. Menurut Irtandi (2019) bekatul mengandung protein 11%, serat kasar 7% dan karbohidrat 34,1%. Menurut Hargrove *et al.*, (1994) bekatul mengandung karbohidrat berupa selulosa, hemiselulosa dan pati.

Selain bekatul, dedak juga digunakan sebagai ransum pakan ternak atau campuran konsentrat. Menurut Tim Laboratorium Fakultas Peternakan IPB dalam buku Pengetahuan Bahan Ternak menyebutkan bahwa dedak padi yang memiliki kualitas unggul dalam bahan kering dengan kandungan protein sebanyak 12,4% dan serat kasar 11,6%. Pemakaian dedak untuk campuran pakan hewan ternak

dalam jumlah besar dapat mengganggu proses pencernaanya karena kandungan serat yang terlalu tinggi.

Pengolahan singkong untuk diproduksi menjadi tepung tapioka menghasilkan limbah yang dikenal dengan sebutan onggok. Onggok digunakan sebagai ransum atau campuran makan unggas maksimal 5%, babi 25-30% dan ruminansia 40%. Onggok dan dedak termasuk dalam limbah agroindustri yang merupakan hasil samping produksi tepung tapioka dan penggilingan padi. Onggok dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan pakan namun belum optimal karena rendahnya kadar protein dan tingginya kadar serat kasar sehingga sulit untuk dicerna (Febriyanti *et al.*, 2017).

Aktivitas enzim selulase yang diperoleh dari isolat bakteri diuji pada substrat bekatul, dedak dan onggok dengan perhitungan hasil produksi gula reduksi dari proses hidrolisis substrat. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat dikembangkan menjadi alternatif pendegradasi selulosa sehingga menurunkan kadar serat selulosa dan meningkatkan kualitas pakan pada ternak sehingga lebih konsumtif. Menurut Melati dan Mas (2016) penggunaan enzim selulase dapat digunakan sebagai upaya dalam menurunkan serat kasar dan meningkatkan kadar protein terlarut akibat terpecahnya dinding sel substrat akibat aktivitas enzim selulase sehingga menyebabkan protein yang semula berikatan dengan dinding sel dapat terlepas. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Moore-Landecker (1990) bahwa kandungan serat kasar dapat didegradasi oleh enzim selulase menjadi gula pereduksi. Selulosa diuraikan menjadi rantai linear dan unit disakarida (selobiosa) kemudian diubah menjadi gula pereduksi berupa glukosa oleh enzim selulase.

Penelitian tentang pemanfaatan beberapa limbah agar diperoleh isolat bakteri penghasil enzim selulase beberapa kali telah dilakukan. Penelitian Ambriyanto *et al.*, (2010) yaitu isolasi dan karakterisasi bakteri aerob pendegradasi selulosa dari rumput gajah (*Pennisetum purpureum* Schaum) diperoleh lima isolat yang cenderung masuk ke dalam tiga genus yaitu *Flavobacterium*, *Lampropedia* dan *Halomonas*. Penelitian Razie *et al.*, (2011) tentang aktivitas enzim selulase dari kompos jerami padi yang sedang melapuk, berasal dari persawahan pasang surut diperoleh 143 isolat bakteri dan fungi

selulolitik. Penelitian Khawatida *et al.*, (2016) yaitu isolasi, *screening* dan karakterisasi isolat bakteri penghasil selulase dari limbah padat kota dan jerami padi diperoleh beberapa isolat yang diidentifikasi sebagai *Basil* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Serratia* sp. Penelitian Sembiring *et al.*, (2019) isolasi enzim selulase yang berasal dari tanah kandang sapi diperoleh tiga isolat dengan nilai indeks aktivitas selulolitik tertinggi pada hari ke-1 yaitu 1,33. Penelitian Murthy *et al.*, (2018) isolasi dan uji aktivitas enzim selulase dari tanah sampah diperoleh empat isolat dari isolasi bakteri selulolitik dengan aktivitas enzim tertinggi pada hari ke-9. Pada penelitian ini dilakukan isolasi bakteri selulolitik sebagai pemanfaatan limbah jerami padi yang diambil dari persawahan Kota Blitar dengan kondisi geografis yang berbeda sehingga akan diperoleh hasil isolat bakteri yang berbeda.

Penelitian tentang pemanfaatan enzim selulase sebagai upaya menurunkan serat kasar selulosa juga telah dilakukan. Melati dan Mas (2016) dalam jurnal penelitiannya tentang pengaruh enzim selulase *Bacillus subtilis* terhadap penurunan serat kasar kulit ubi kayu untuk bahan baku pakan ikan, dengan tujuan untuk mengetahui dosis yang efektif dari enzim selulase dalam menurunkan fraksi serat kasar kulit ubi kayu. Penelitian Melati *et al.*, (2014) tentang aktivitas enzim selulase dari bakteri TS2b yang diisolasi dari rumput laut serta pemanfaatannya dalam menghidrolisis kulit ubi kayu serta daun ubi kayu, diperoleh energi hidrolisis enzim selulase paling tinggi pada substrat kulit ubi kayu dengan kandungan gula reduksi berturut-turut sebesar 0,0179 U/mL dan 0,9701 U/mL. Penelitian Gunam *et al.*, (2011) tentang proses sakarifikasi menggunakan enzim selulase kasar dari *A. niger* pada substrat ampas tebu diperoleh hasil delignifikasi menghasilkan gula reduksi sebesar 54,47 mg/100mL. Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas enzim selulase pada substrat bahan pokok pakan ternak yaitu bekatul, dedak dan onggok sehingga berpengaruh dalam menurunkan kadar selulosa dan meningkatkan nilai cerna pada hewan ternak.

Berdasarkan latar belakang diatas, maka penelitian tentang isolasi bakteri selulolitik dari jerami padi dan uji aktivitas enzim selulase pada berbagai substrat (bekatul, dedak dan onggok) penting untuk dilakukan. Data hasil penelitian

diharapkan dapat dilakukan penelitian lanjutan hingga pengaplikasian pada sektor industri sehingga menunjang perkembangan teknologi industri 4.0.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Apa saja isolat bakteri selulolitik yang diperoleh dari isolasi jerami padi?
2. Bagaimana perbedaan aktivitas enzim selulase pada berbagai substrat (bekatul, dedak dan onggok)?
3. Apa genus bakteri selulolitik yang memiliki aktivitas hidrolisis tertinggi?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui isolat bakteri selulolitik yang diperoleh dari isolasi jerami padi.
2. Untuk mengetahui aktivitas enzim selulase pada berbagai substrat (bekatul, dedak, dan onggok).
3. Untuk mengetahui genus bakteri selulolitik yang memiliki aktivitas hidrolisis tertinggi.

1.4 Manfaat Penelitian

Beberapa manfaat yang diharapkan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Memanfaatkan limbah pertanian yaitu pada jerami padi agar tidak semata terbuang dan dibakar sehingga menimbulkan pencemaran.
2. Bagi peneliti adalah mengetahui jenis-jenis bakteri penghasil enzim selulase yang dapat diisolasi dari jerami padi.
3. Memberikan pengetahuan dibidang mikrobiologi mengenai potensi mikroba dalam menghasilkan enzim yang selanjutnya dapat diaplikasikan terutama pada bidang industri dan lain-lain.
4. Mengetahui aktivitas enzim selulase pada berbagai substrat (bekatul, dedak dan onggok) sehingga dapat dikembangkan untuk meningkatkan nilai cerna pada hewan ternak dengan menurunkan kadar serat kasar pada

bahan pokok pangan, sehingga lebih konsumtif.

1.5 Batasan Masalah

Untuk mendapatkan penelitian yang terarah, perlu dilakukan beberapa batasan sebagai berikut:

1. Isolat bakteri selulolitik yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dari jerami padi (*Oryza sativa*) yang diperoleh di area persawahan Jalan Ciliwung, Tanggung, Kota Blitar, Jawa Timur.
2. Proses isolasi menggunakan metode *dilution plate* dan purifikasi menggunakan *streak kuadran* pada media CMC secara aerobik sehingga bakteri pendegradasi selulosa yang diperoleh termasuk bakteri aerob.
3. Penentuan aktivitas pertumbuhan bakteri dilaksanakan selama 36 jam hingga diperoleh fase kematian (*death*) dan uji aktivitas enzim dilakukan pada fase akhir eksponensial.
4. Identifikasi bakteri dilakukan sampai tingkat genus dengan panduan *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology 9th* (Holt et al., 1994).

BAB II KAJIAN PUSTAKA

2.1 Bakteri Selulolitik

Allah SWT menciptakan mikroorganisme berupa bakteri pasti terdapat peran dan manfaatnya dalam kehidupan, sebagaimana disebutkan dalam Al-Qur'an Surat Al-Hijr (15) ayat 21:

وَإِنْ مِنْ شَيْءٍ إِلَّا عِنْدَنَا خَزَائِنُهُ وَمَا نُنَزِّلُهُ إِلَّا بِقَدَرٍ مَّعْلُومٍ ۚ ٢١

Artinya: *“Dan tidak ada sesuatu pun melainkan pada sisi Kami-lah khazanahnya; dan Kami tidak menurunkannya melainkan dengan ukuran yang tertentu.”*

Berdasarkan tafsir Kemenag RI (2006) ayat diatas menjelaskan kekuasaan Allah SWT dalam menciptakan dan mengatur segala sesuatu pasti terdapat sisi kamilah khazanahnya. Allah tidak menciptakan segala sesuatu kecuali dengan ukuran tertentu, yaitu kondisi, kebutuhan dan keadaan masing-masing. Hal demikian dapat dikaitkan sebagaimana Allah menciptakan mikroorganisme berupa bakteri dengan ukuran sangat kecil dan tidak dapat dilihat langsung dengan mata, namun memiliki peran dan manfaat yang besar bagi kehidupan

Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme bersel tunggal, tidak terlihat oleh mata dan tidak memiliki membran inti. Bakteri menyebar secara luas di alam dan dapat berada di lingkungan biotik maupun abiotik. Beberapa kelompok bakteri dapat menimbulkan penyakit atau disebut patogen (Radji *et al.*, 2011). Namun tidak semua kelompok bakteri bersifat patogen, beberapa jenis bakteri memiliki peran yang besar bagi lingkungan, pangan dan kesehatan (probiotik). Salah satunya adalah bakteri selulolitik yang memiliki kemampuan menghasilkan enzim selulase dengan menghidrolisis selulosa pada jaringan tumbuhan menjadi produk yang lebih sederhana yaitu glukosa (Arifin *et al.*, 2019).

Proses hidrolisis menghasilkan glukosa sebagai produk sederhana dari hasil penguraian selulosa, atau dalam kata lain mendegradasi selulosa. Bakteri selulolitik hidup dan berkembang pada habitat yang kaya akan selulosa seperti pada limbah pertanian, lokasi TPA atau tanah sampah. Bakteri pendegradasi selulosa dalam tanah sampah cukup tinggi karena adanya pembusukan daun yang gugur dan masuk dalam tanah TPA (Ulfa *et al.*, 2014). Bakteri selulolitik terdapat pada beberapa genus antara lain *Achromobacter*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Clostridium*, *Cellivibrio* dan lain-lain (Rao, 1994).

Isolasi bakteri selulolitik bertujuan mendapatkan bakteri yang berpotensi dalam mendegradasi selulosa dan menghasilkan enzim selulase. Mikroba dekomposer selulolitik cukup memiliki keberagaman jenis dan memiliki kemampuan yang tinggi dalam mendegradasi kandungan selulosa dalam bahan organik (Agus *et al.*, 2014). Bakteri selulolitik memiliki kemampuan sebagai degradator selulosa karena dapat menghasilkan enzim dengan spesifikasi berbeda yang bekerjasama dalam menghidrolisis ikatan (1,4) β -D-glukosa pada selulosa (Hapsoh *et al.*, 2016).

2.2 Jerami Padi (*Oryza sativa*)

Jerami padi merupakan bagian dari tanaman padi yang sudah tidak memiliki buah (gabah) sehingga hanya tersisa batang dan daun yang termasuk dalam limbah pertanian. Jerami padi termasuk limbah pertanian yang belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat disebabkan kurangnya pengetahuan untuk proses pengolahannya (Hanafi *et al.*, 2008). Umumnya jerami padi digunakan untuk menutup tanah pada tanaman palawija oleh petani. Sebagian lagi dimanfaatkan sebagai simpanan makanan untuk ternak ketika sulit mendapatkan tanaman hijau saat musim kemarau. Jerami padi adalah limbah pertanian yang pada umumnya para petani memusnahkannya dengan melakukan pembakaran di lahan persawahan (Rahmiati *et al.*, 2019). Pembakaran limbah pertanian dapat menimbulkan peningkatan kadar CO₂ di udara sehingga berdampak terjadinya pemanasan global (Puspaningsih *et al.*, 2007).

Menurut Badan Pusat Statistik (BPS) dari hasil penelitian tahun 2011 diberitakan bahwa hasil produksi tanaman padi skala nasional setiap tahunnya mencapai 71,29 juta ton. Hasil samping berupa jerami padi mencapai 12 sampai 15 ton setiap hektarnya (Berita Resmi Statistik, 2013). Makarim *et al.*, (2007) menyatakan jerami padi termasuk organ vegetatif yang terdiri dari batang, daun dan tangkai malai. Secara morfologi jerami padi tersusun atas bagian daun, pelepah daun, dan ruas atau buku. Ketiga bagian tersebut terdapat kandungan silika dan selulosa yang cukup tinggi, sehingga dibutuhkan waktu yang relatif lama untuk proses pelapukan. Proses pelapukan tersebut dapat dipercepat apabila jerami diberi perlakuan seperti pemberian urea, kapur, atau mikroba perombak bahan organik seperti bakteri selulolitik.

2.3 Selulosa

Selulosa merupakan salah satu komponen dalam susunan dinding sel tanaman, dengan kandungan mencapai 35 - 50% dari berat kering tanaman (Saha *et al.*, 2004). Selulosa adalah polimer alam yang paling melimpah, terdiri atas polimer glukosa yang terbentuk secara linier dari unit β -1,4 glukosa yang dihubungkan melalui ikatan β -1,4-D-glikosida (Perez *et al.*, 2002; Han *et al.*, 1995). Rumus molekul selulosa adalah $(C_6H_{10}O_5)_n$. Selulosa paling banyak dimanfaatkan oleh sektor industri sebagai bahan baku alternatif. Namun produksinya belum maksimal karena adanya ikatan hidrogen intra dan antar molekul yang kuat pada struktur selulosa sehingga menyebabkan kesulitan saat proses penguraianya (Song *et al.*, 2008).

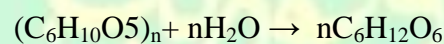
Selulosa tidak dapat ditemukan murni, pada umumnya berasosiasi dengan pektin, hemiselulosa dan lignin atau disebut sebagai lignoselulosa. Selulosa sulit diuraikan karena terhubung dengan ikatan glikosidik, terdapat didalam tumbuhan yang tersusun dalam bentuk fibril berupa molekul yang tersusun paralel (Fitriani *et al.*, 2003). Penguraian komponen selulosa oleh aktivitas mikroorganisme seperti bakteri dan fungi digunakan sebagai sumber energi (Sukumaran *et al.*, 2005). Selulosa dihidrolisis oleh bakteri melalui sekresi enzim selulase pada rantai panjang selulosa melalui pemotongan ikatan β -1,4 glukosida. Selulosa terurai

menjadi glukosa dan karbondioksida apabila berada pada lingkungan aerobik kemudian bergabung dalam sel, sedangkan pada lingkungan anaerobik selulosa akan terurai menjadi alkohol dan asam organik (Prihatiningrum *et al.*, 2002).

2.4 Hidrolisis Selulosa

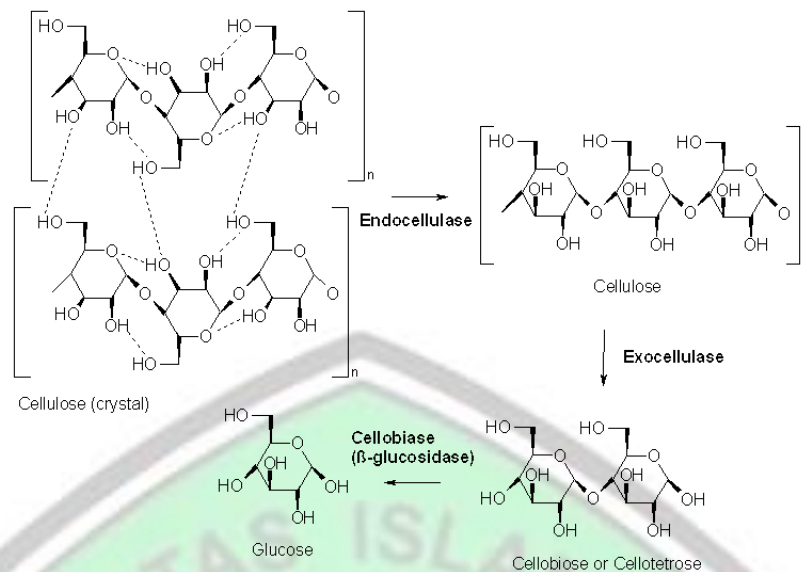
Proses hidrolisis selulosa merupakan penguraian molekul dengan ikatan air sehingga menghasilkan molekul yang lebih kecil berupa glukosa. Faktor yang mempengaruhi antara lain konsentrasi asam, suhu dan waktu hidrolisis. Reaksi yang terjadi antara air dengan komponen organik cukup lama pada kondisi normal sehingga perlu adanya penambahan katalis untuk mempercepat reaksi. Hidrolisis selulosa secara sempurna akan menghasilkan monomer selulosa yaitu glukosa, sedangkan hidrolisis tidak sempurna menghasilkan selobiosa yang merupakan disakarida dari selulosa (Amelia *et al.*, 2013).

Proses hidrolisis selulosa hingga menghasilkan glukosa melalui hidrolisis asam dengan menggunakan H_2SO_4 atau melalui hidrolisis enzimatik menggunakan enzim selulase (Fuadi *et al.*, 2017). Dalam hidrolisis selulosa yang memiliki struktur linier, selulosa diubah menjadi selubiosa kemudian menjadi glukosa (Sarker, 2007). Umumnya reaksi hidrolisis selulosa adalah sebagai berikut:



Panjang rantai polimer adalah n yang mana menunjukkan derajat polimerisasi. Penguraian 1 mol selulosa akan menghasilkan n mol glukosa. Berdasarkan persamaan reaksi tersebut, diketahui bahwa hidrolisis selulosa dapat dilakukan hanya menggunakan air, namun harus memerlukan waktu yang sangat lama. Sehingga untuk mempercepat reaksi, perlu ditambah katalisator berupa asam atau enzim (Fuadi *et al.*, 2017).

Tahap dalam sistem enzimatik dalam proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa melalui dua tahap yaitu penguraian ikatan glukosidik menjadi selobiosa melalui β -1,4 glukonase dan penguraian ikatan β -1,4 glukosidik pada selobiosa menjadi glukosa melalui β -glukosidase (Reese *et al.*, 1976). Proses hidrolisis selulosa diperlukan kerja sinergistik dari tiga reaksi sistem multienzim dari selulase. Proses hidrolisis selulosa oleh enzim selulase terdapat pada **Gambar 2.1**:



Gambar 2.1. Proses Hidrolisis Selulosa (Abdullah, 2011)

Mekanisme kerja dari hidrolisis selulosa melibatkan tiga kelompok enzim yaitu endoglukanase (endo β -1,4 glukonase) yang aktivitasnya berada pada wilayah serat selulosa dan terjadi kerusakan interaksi non-kovalen yang hadir dalam struktur kristal selulosa (endo-selulase) membentuk ujung rantai bebas. Selanjutnya eksoglukanase (ekso β -1,4 glukonase) atau selobiohidrolase mendegradasi lebih lanjut dengan memindahkan unit-unit selobiosa dari ujung rantai yang bebas, dan β -1,4 glukosidasi atau selobiase berperan sebagai penghidrolisis selobiosa menjadi unit glukosa (Amelia *et al.*, 2013).

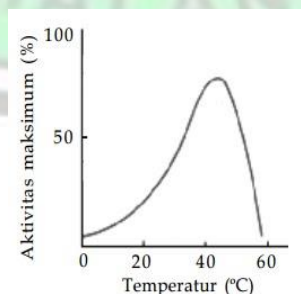
Proses degradasi selulosa terjadi akibat sistem kerja enzim dengan spesifikasi berbeda dan saling bekerjasama dalam menghidrolisis ikatan β -1,4 glikosidik pada rantai selulosa. Reaksi enzim melalui proses kerja yang sinergis yaitu endoglukanase, eksoglukanase, dan β -glukosidase (Lymar *et al.*, 1995). Bakteri selulolitik menghasilkan enzim selulase yang kompleks bekerja sama menguraikan selulosa hingga menjadi unit glukosa. Endoglukanase merupakan salah satu reaksi selulase yang selalu ditemukan pada mikroorganisme selulolitik. Enzim ini memiliki afinitas tinggi pada daerah amorf dan serat selulosa dalam melakukan hidrolisis ikatan β -1,4 glikosidik secara acak pada substrat CMC sehingga nilai viskositas substart yang dapat larut menjadi turun (Razie *et al.*, 2011). Enzim eksoglukanase atau selobiohidrolase berperan dalam menghidrolisis

selulosa dalam bentuk kristal pada ujung rantai oligosakarida menjadi selobiosa, yaitu dua molekul glukosa yang memiliki ikatan β -1,4 glikosidik (Meryandini *et al.*, 2009). Enzim β -glukosidase melakukan pemutusan ikatan β -1,4 glikosida dari dua molekul glukosa menjadi gula reduksi sederhana (Razie *et al.*, 2011).

2.5 Enzim

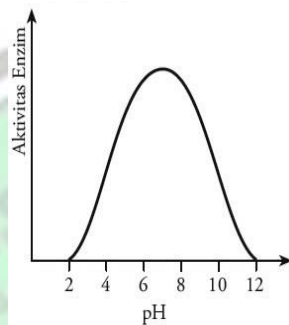
Enzim merupakan biokatalisator dengan kemampuan 10^8 sampai 10^{11} kali lebih cepat. Adanya enzim akan sangat berpengaruh terhadap kecepatan proses reaksi (Lehninger, 1982). Enzim merupakan susunan asam amino yang teratur dan tetap, memiliki struktur tiga dimensi dan bekerja pada substrat tertentu yang spesifik. Hal tersebut disebabkan oleh sifat khusus pada gugus polar dan non polar pada enzim (Fessenden, 1994). Enzim berperan sebagai katalisator karena memiliki spesifitas yang tinggi dapat mempercepat reaksi tanpa pembentukan produk samping. Selain itu, enzim bersifat aman dan mudah dikontrol karena berpotensi pada suhu normal dan pH netral (Poedjiadi & Supriyatin, 2005).

Aktivitas enzim pada suatu reaksi dipengaruhi oleh suhu yang secara umum meningkatnya suhu hingga melebihi suhu optimum akan menimbulkan peningkatan kerja enzim namun melemahnya ikatan struktural dalam enzim sehingga menimbulkan enzim terdenaturasi (Pratiwi *et al.*, 2008). Enzim tidak aktif pada suhu rendah mencapai 0^0 , dan aktif kembali pada suhu normal (Poedjiadi & Supriyatin, 2005). Reaksi yang tepat berada pada suhu optimum (Rodwell, 2011). Hubungan aktivitas enzim dengan suhu ditunjukkan pada **Gambar 2.2**.



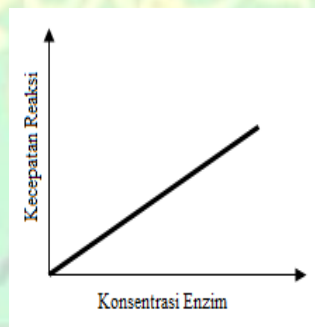
Gambar 2.2. Hubungan Aktivitas Enzim dengan Suhu (Poedjiadi *et al.*, 2006).

Selain dipengaruhi oleh suhu, aktivitas enzim dipengaruhi oleh perubahan pH yang berkaitan dengan struktur ion enzim berupa ion positif dan negatif (*zwitter ion*). Pada umumnya enzim memiliki aktivitas maksimum dengan pH antara 4,5 sampai 8,0. Nilai pH yang terlalu tinggi maupun terlalu rendah menyebabkan denaturasi sehingga aktivitas enzim menurun (Winarno *et al.*, 2002). Hubungan aktivitas enzim dengan pH ditunjukkan pada **Gambar 2.3**.



Gambar 2.3. Hubungan Aktivitas Enzim dengan pH (Winarno *et al.*, 2002).

Konsentrasi enzim juga dapat mempengaruhi kecepatan reaksi enzimatik sehingga aktivitas enzim meningkat (Poedjiadi & Supriyatin, 2006). Semakin tinggi konsentrasi enzim pada suatu reaksi maka semakin tinggi aktivitas enzim dalam mengkatalis reaksi tersebut (Lehninger, 2005). Hubungan kecepatan reaksi dengan konsentrasi enzim ditunjukkan pada **Gambar 2.4**.



Gambar 2.4. Hubungan Kecepatan Reaksi dengan Konsentrasi Enzim
(Poedjiadi *et al.*, 2006).

2.6 Enzim Selulase

Enzim selulase bekerja dengan memotong ikatan glukosida β -1,4 pada rantai panjang selulosa. Makhluk hidup yang dapat menghasilkan enzim selulase selain dari kelompok tumbuhan ialah beberapa hewan seperti sapi, kambing dan

rayap karena terdapat bakteri yang berperan dalam hidrolisis ikatan β -1,4 D-glikosidik pada sistem pencernaannya (Salma & Gunarto, 1999). Enzim selulase dikelompokkan dalam jenis enzim hidrolase disebabkan proses penguraian selulosa dengan cara hidrolisis (Zhang *et al.*, 2006).

Dalam proses metabolisme mikroorganisme dapat mensekresikan partikel lain yang disebut dengan selulosom. Selulosom berperan mendisintegrasikan menjadi enzim yang dapat mendegradasi selulosa (Belitz *et al.*, 2008). Enzim selulase berfungsi dalam proses hidrolisis selulosa melalui penguraian ikatan β -1,4 D-glikosida untuk membentuk oligosakarida hingga diperoleh hasil akhir berupa glukosa. Aktivitas enzim bekerja secara sinergis membentuk menjadi tiga reaksi diantaranya yaitu endoglukanase (endo- β -1,4-glucanase), β -glukosidase (β -D-glucosideglucohydrolase) dan selobiohidrolase atau eksoglukanase (exo- β -1,4-glucanase) (Zhang *et al.*, 2006 & Doi *et al.*, 2003).

Enzim selulase cenderung stabil pada kondisi ekstrim dan merupakan kompleks multienzim sehingga dapat dimanfaatkan pada sektor industri. Enzim selulase banyak diaplikasikan pada industri kertas untuk memodifikasi serat, menghilangkan warna dan meningkatkan drainase. Selain itu, digunakan pada industri tekstil sebagai biopolishing dan deterjen karena dapat mencerahkan warna kain dan melembutkan tekstur kain (Ladeira *et al.*, 2015).

2.7 Faktor Genetika Aktivitas Enzim Selulase

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh faktor internal (genetik) dan faktor eksternal (kondisi lingkungan) antara lain suhu, pH, senyawa penginduksi, sumber karbon dan waktu produksi (Prima *et al.*, 2015). Faktor genetik bakteri mempengaruhi enzim selulase yang dihasilkan dari spesies mikroorganisme penghasil enzim selulase atau bakteri selulolitik. Gen menentukan sifat enzim yang berperan dalam rangkaian reaksi kimia pada proses metabolisme (Prima *et al.*, 2015). Setiap mikroorganisme memiliki gen yang berbeda sehingga sifat yang dimunculkan berbeda. Setiap gen memiliki sifat spesifik sebagai kode reaksi suatu enzim. Berdasarkan fungsinya jenis gen terbagi atas gen pengatur dan gen struktural. Gen struktural menentukan struktur enzim berupa urutan asam amino,

sedangkan gen pengatur mengarahkan pada laju sintesis enzim (Campbell *et al.*, 2002).

2.8 Substat

Substrat atau dapat disebut sebagai media merupakan suatu tempat tumbuh yang mengandung nutrisi untuk mendukung pertumbuhan mikroba. Substrat harus mengandung komponen nutrient yang cukup untuk memenuhi kebutuhan mikroba dan sebagai tempat untuk tumbuh dan berkembang sehingga menghasilkan produk metabolit dari proses metabolisme setiap mikroba. Substrat lebih banyak berasal dari kelompok tumbuhan seperti biji-bijian (*grain*), susu (*milk*) dan sedikit dari kelompok hewan (Indriyanto, 1995).

Substrat atau media berdasarkan bentuknya dibedakan menjadi tiga, antara lain yang substrat cair seperti air untuk pembuatan anggur, substrat semi cair contohnya pada proses pembuatan yoghurt, dan substrat padat, contohnya pada produksi tempe dan *solid substrate fermentation* (SSF) untuk jamur berfilamen, *yeast* dan *Streptomyces*. Selain itu, bahan alami yang berasal dari hasil pertanian dan hutan juga dapat digunakan sebagai media karena memiliki kandungan seperti karbohidrat yang terdiri antara lain pati (tepung), selulosa, hemiselulosa dan lignin (Nurcahyo *et al.*, 2011).

Komposisi substrat termasuk faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme serta produksi enzim karena digunakan untuk sumber energi dalam proses pembentuk sel mikroorganisme (Darwis & Sukara, 1990). Salah satu komposisi substrat yang dapat dipergunakan untuk pertumbuhan mikroba dan produksi enzim adalah selulosa. Ketersediaan selulosa di bumi sebagai senyawa organik sangat melimpah karena dapat diperoleh dari beberapa hasil limbah pertanian maupun perkebunan. Selulosa termasuk serat padat yang merupakan sisa pemurnian dari jaringan tanaman dengan asam dan ammonia. Karbohidrat merupakan salah satu jenis bahan hasil pemurnian dari selulosa dikarenakan residu glukosa yang hampir sama dengan pati, dan merupakan isomer dari bahan penyusun pati (Zugenmaier, 2008).

Pati merupakan polisakarida yang tersusun atas karbohidrat (Fessenden & Fessenden, 1986). Pati berpotensi memiliki sumber karbon yang tersedia melimpah di alam dengan harga yang relatif murah. Pati banyak ditemui pada berbagai hasil perkebunan dan pertanian antara lain beras, ketela pohon, ubi jalar dan gandum. Pati dapat pula ditemukan pada berbagai industri sebagai limbah, salah satunya adalah onggok.

a. Onggok

Onggok merupakan hasil samping industri tepung tapioka yang sangat melimpah. Proses produksi tepung tapioka dihasilkan sebesar 250 kg (24%) tapioka dan 114 kg (11,4%) berupa limbah onggok dari setiap ton bahan ubi kayu. Perolehan limbah berupa onggok semakin meningkat seiring dengan meningkatnya produksi tapioka (Supriyati *et al.*, 2005). Komponen yang diperoleh dari industri ini adalah pati dan serat kasar. Pemanfaatan onggok di kalangan masyarakat masih sebatas sebagai pakan ternak. Berdasarkan penelitian Amenaghawon *et al.*, (2014) onggok atau ampas singkong memiliki kandungan selulosa sebanyak 21,3%, hemiselulosa 36,6% dan lignin sebanyak 17,3%. Serat kasar berupa selulosa dan hemiselulosa merupakan serat yang terkandung dalam tanaman yang sulit larut dalam air bahkan tidak dapat larut (Arnata, 2009).

b. Dedak dan Bekatul

Secara morfologi hasil panen padi terdiri atas endosperma atau butiran beras dan kulitnya atau disebut dengan sekam. Proses penggilingan maupun penumbukan padi agar mendapatkan beras yang didalamnya mengandung komposisi 16-28% sekam, 6-11% dedak, 2-4% bekatul, dan kurang lebih mencapai 60% endosperma. Jadi pada proses penggilingan padi ada dua perlakuan penyosohan, yang pertama menghasilkan dedak dan yang kedua menghasilkan bekatul (Aswatan, 2009). Perbedaan dedak dan bekatul menurut Bahan Pangan Dunia (FAO) yaitu dedak adalah lembaga, pericarp dan tegmen yang merupakan lapisan sebelah luar dari butiran beras. Sedangkan bekatul adalah lapisan aleuron dan endosperma berpati yang merupakan lapisan dalam dari beras.

Karbohidrat merupakan senyawa kimia yang tersusun atas gugus hidroksil, dibentuk oleh tanaman hijau selama proses fotosintesis sehingga berguna sebagai

sumber energi dan komponen struktural dalam organisme. Karbohidrat pada bekatul mengandung selulosa, hemiselulosa dan pati. Sedangkan karbohidrat utama didalam dedak adalah hemiselulosa (8,7-11,4 %), selulosa (9-12,8 %), pati (5-15 %) dan β -glukan (1 %) (Hargrove, 1994).

2.9 Uji Aktivitas Enzim Selulase dengan Metode DNS

Penentuan aktivitas enzim diperoleh dari hasil pengukuran kadar gula reduksi dari proses hidrolisis enzim. Metode yang umum digunakan adalah dengan DNS (*3,5-dinitrosalicylic acid*) (Irawati, 2016). Metode DNS yaitu dengan menggunakan pereaksi DNS sebagai pengukuran mikroba dalam memproduksi gula reduksi. Metode ini dapat diaplikasikan pada pereaksi yang sangat kecil karena memiliki tingkat ketelitian yang tinggi (Putri, 2016). Metode DNS dipilih karena lebih mudah dilakukan dalam pengukuran sampel (Hasanah & Iwan, 2015). Sedangkan pada metode *Nelson-Somogy* memiliki kelemahan yaitu harus lebih berhati-hati karena pereaksi cukup beracun sehingga perlakuan yang dilakukan lebih rumit (Irawati, 2016).

Penentuan gula reduksi dari sekresi enzim pendegradasi polisakarida yang sering digunakan adalah dengan metode DNS, yaitu dengan menggunakan reagen asam 3,5-dinitrosalisilat. Reagen tersebut memiliki daya serap tinggi pada sinar radasi elektromagnetik pada gelombang 540 nm sehingga membentuk senyawa asam 3-amino-5-nitrosalisilat yang ditandai perubahan warna menjadi kuning kecoklatan (Bailey, 1992). Reaksi dari reagen DNS dengan gula pereduksi menyebabkan perubahan warna yang semula berwarna kuning berubah semakin pekat hingga berwarna jingga kemerahan (Irawati, 2016). Komponen pendukung dalam kerja pereaksi reagen DNS antara lain KNa-tartarat, fenol, sodium bisulfit (Na_2SO_3), dan natrium hidroksida (NaOH) (Irawati, 2016).

Aktivitas enzim selulase dapat ditentukan dari nilai absorbansi sehingga didapatkan nilai konsentrasi standar glukosa. Hasil pengukuran selanjutnya dilakukan perhitungan dengan rumus hingga diperoleh nilai aktivitas dengan satuan U/mL. Artinya dalam satu unit merupakan konsentrasi enzim yang

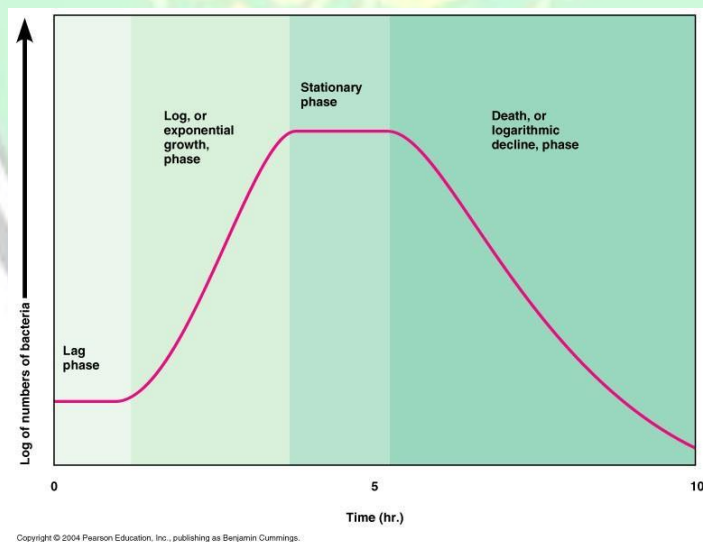
diperlukan dalam memecahkan 1 μmol selulosa hingga menjadi gula pereduksi perwaktu inkubasi (Huan *et al.*, (2012) dalam Irawati, 2016).

$$AE = \frac{C}{BM \text{ Produk} \times t} \times \frac{H}{E}$$

Keterangan dari rumus meliputi AE merupakan aktivitas enzim dengan satuan (Unit/mL); C adalah konsentrasi glukosa; BM disimbolkan sebagai berat molekul glukosa dengan nilai 180 g/mol; selanjutnya t adalah waktu inkubasi dengan satuan menit; H merupakan volume total enzim substrat dengan satuan ml; dan E merupakan simbol untuk volume enzim dalam mL.

2.10 Kurva Pertumbuhan Bakteri Sululolitik

Kurva pertumbuhan adalah suatu grafik yang berisi informasi fase kehidupan dan kecepatan pertumbuhan sel mikroba. Proses membuat kurva pertumbuhan merupakan salah satu rangkaian penelitian mikrobiologi sebagai data aktivitas pertumbuhan dan karakteristik kolonisasi isolat mikroba. Selain itu, perhitungan waktu generasi berguna untuk mengetahui proses metabolisme mikroba. Fase pertumbuhan mikroba pada umumnya meliputi, lag (adaptasi), log (pertumbuhan eksponensial), stasioner dan kematian (Fardiaz, 1992).



Gambar 2.5 Kurva Pertumbuhan Bakteri (Wahyuni, 2017)

Fase lag terjadi proses adaptasi mikoba dengan media tumbuh baru, yang mana jumlah perubahan sel sangat sedikit sehingga hanya ada perubahan pada massa sel namun tidak ada perubahan jumlah sel. Memasuki fase log atau eksponensial dimana mulai terjadi pembelahan sel dan masuk pada periode pertumbuhan, aktif bereproduksi dan waktu generasi berjalan konstan. Pada fase stasioner laju pertumbuhan mulai melambat dan populasi stabil sehingga presentase kehidupan bakteri sebanding dengan kematiannya. Pada fase ini, sel mikroba mulai mengeluarkan senyawa atau metabolit sekunder yang dapat meracuni media dan dapat menimbulkan kematian mikroba. Fase akhir dari pertumbuhan mikroba adalah fase kematian dengan ditandai garis menurun yang menggambarkan banyaknya sel mikroba yang mati. Pertumbuhan bakteri akan terhenti saat konsentrasi sel sangat besar sedangkan nutrisinya tidak mencukupi sehingga bakteri mati (Tortora *et al.*, 2001).



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif untuk mengetahui jenis bakteri selulolitik melalui proses isolasi dari jerami padi dan dilakukan uji aktivitas enzim selulase pada berbagai substrat (bekatul, dedak, dan onggok). Penelitian dilakukan melalui dua tahap, tahap pertama secara diskriptif kualitatif dengan mengisolasi bakteri selulolitik dari jerami padi dan dilanjutkan dengan *screening*. Bakteri hasil isolasi ditanamkan pada media selektif CMC (*Carboxymethyl cellulose*) kemudian dilakukan identifikasi dan uji aktivitas enzim menggunakan pewarna *congo red* hingga diperoleh data kualitatif. Penelitian tahap kedua dilakukan secara diskriptif kuantitatif menggunakan reagen DNS (*3,5-dinitrosalisilat*) untuk mengetahui aktivitas enzim selulase pada berbagai substrat yaitu bekatul, dedak dan onggok.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2020 – Februari 2021 di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.3 Alat dan Bahan

3.3.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca digital Sartorius, incubator Mammerr, Laminar Air Flow (LAF) ESCO, hot plate Thermo Scientific, oven, autoklaf SS XFS 280A, shaker incubator BENCHMARK, water bath, thermometer, *object glass*, vortex Maxi Mix I, jarum ose, pipet, lemari es, erlenmeyer PYREX IWAKI, tabung reaksi PYREX IWAKI, cawan petri PYREX IWAKI, bunsen, korek, *spectrophotometer UV-Vis*, botol flakon, penggaris, kuvet,

magnetic stirrer, sentrifugasi *Thermo Scientific*, neraca analitik, blue tip *ONE-MED*, mikroskop, micropipet *BIO-RAD* dan blender *Miyako*, tabung *Eppendorf*.

3.3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jerami padi sebagai sampel yang diisolasi, beberapa reagen dan bahan penelitian yang digunakan antara lain akuades, alkohol 70% untuk desinfektan, NA (*Nutrient agar*), CMC (*carboxymethyl cellulose*), NB (*Nutrient broth*), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, K_2HPO_4 , KNO_3 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, *yeast ekstrak*, agar, spirtus, alumunium foil, kertas label, tissue, kapas dan kasa secukupnya. Substrat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bekatul, dedak, dan onggok. Reagen pewarnaan gram (*Crystal violet (hexamethyl pararosaniline)*), *Safranin (2,8-dimethyl-3,7-diamino-phenazine)*, alkohol 70%), minyak inersi, NaOH, *malachite green (4-4-(dimethylamino-phenyl)*, reagen DNS (*3,5-dinitrosalisilat*), pewarna *Congo Red*, reagen arsenomolibdat, dan buffer fosfat.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Preparasi Alat

Semua peralatan dari kaca dan media yang digunakan dalam penelitian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 Psi selama 15 menit.

3.4.2 Preparasi Sampel Jerami Padi

Jerami padi diambil dari persawahan pasca panen padi, dikeringkan menggunakan oven pada suhu 55°C selama 3 hari. Sampel yang sudah kering dihaluskan dengan *blender* dan ayakan 65 mesh (Meryandini *et al.*, 2009).

3.4.3 Isolasi Bakteri

Isolasi bakteri selulolitik pada jerami padi diawali dengan melakukan perendaman sampel menggunakan akuades steril selama 24 jam pada shaker inkubator dengan tujuan agar larutan zat membentuk larutan yang homogen melalui getaran dan gerakan satu arah dari shaker. Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat dari 10^{-1} sampai 10^{-10} . Pengenceran bertingkat bertujuan

mengurangi kepadatan koloni yang tumbuh pada media isolasi. Hasil pengenceran 10^{-8} , 10^{-9} , dan 10^{-10} ditanam dalam media NA sebanyak 1 mL dengan 2 kali ulangan menggunakan metode tuang (*pour plate*) dan diinkubasi selama 24 jam (Hapsah *et al.*, 2016).

3.4.4 Pemurnian dan Seleksi Bakteri Selulolitik

Pemurnian dan seleksi bakteri selulolitik dilakukan pada media selektif yaitu CMC (*carboxymethyl cellulose*). Komposisi media CMC antara lain *yeast ekstrak* 0,2 gram, pepton 1% 0,2 gram, NaCl 0,1 gram, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,01 gram, $CaCl_2$ 0,01 gr, bakto agar 1,5 gram, dan CMC 0,05 gram. Seluruh bahan dilarutkan dengan akuades hingga volume akhir 100 mL pada erlenmeyer. Selanjutnya dipanaskan dengan *hot plate* sampai mendidih dan dihomogenkan menggunakan *magnetic stirrer*. Hasil media selektif CMC selanjutnya dimasukkan dalam autoklaf untuk disterilkan (Khadijah, 2012). Pemurnian bakteri dilakukan dengan menuangkan media CMC steril pada cawan petri, dan ditunggu hingga media memadat.

Selanjutnya diambil isolat menggunakan ose dan diinokulasikan pada media CMC dengan metode gores (*streak kuadran*) kemudian diinkubasi pada suhu $37^{\circ}C$ selama 24 jam. Hasil pemurnian bakteri ditandai melalui pertumbuhan isolat yang terpisah atau menyendiri dengan bentuk morfologi yang sama. Peremajaan bakteri selulolitik dilakukan setiap satu minggu sekali pada media CMC miring dengan metode zig-zag. Hasil peremajaan bakteri dipindahkan kedalam lemari es sebagai stok subkultur (Murtiyaningsih *et al.*, 2017).

3.4.4.1 Karakterisasi Morfologi

Karakterisasi morfologi dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada media selektif kemudian mengamati penampakan koloni bakteri melalui pandangan atas dapat berupa titik, bulat, benang, tidak beraturan, seperti akar atau seperti kumparan. Pengamatan permukaan koloni bakteri dilakukan melalui arah samping dapat diperoleh tekstur rata, datar timbul, melengkung atau membukit. Tepi koloni bakteri diamati dari pandangan atas dengan bentuk utuh, berombak,

berbelah, bergerigi, dan keriting. Pengamatan terakhir pada warna koloni dapat berwarna putih, kelabu, kekuningan dan hampir bening (Asadullah, 2014).

3.4.5 Screening dan Uji Aktivitas Bakteri Selulolitik

Screening digunakan untuk mendeteksi adanya bakteri dan aktivitasnya sebagai uji kualitatif. Suspensi isolat bakteri selulolitik murni diinokulasikan dengan cara ditotolkan pada media CMC dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu 37⁰ C selama 24 jam. *Screening* bakteri selulolitik dilakukan dengan cara menuangkan larutan *congo red* 0,1% kedalam cawan petri dan didiamkan selama 15 menit. Selanjutnya dilakukan pembilasan menggunakan NaCl 1 M selama 15 menit sebanyak tiga kali pembilasan (Murtiyaningsih *et al.*, 2017).

Proses hidrolisis selulosa oleh bakteri selulolitik ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri. Aktivitas enzim selulase dari bakteri selulolitik ditentukan dengan luas ukuran pada area bening dan ukuran koloni. Zona bening yang terbentuk diukur dan dilakukan perhitungan nilai indeks selulolitik (IS) dengan rumus sebagai berikut (Sukmawati, 2018):

$$\text{Rumus Indeks Selulolitik} = \frac{\text{Diameter zona bening} - \text{Diameter koloni}}{\text{Diameter Koloni}}$$

3.4.6 Uji Aktivitas Enzim Selulase

a. Pembuatan Kurva Pertumbuhan

Fase pertumbuhan bakteri dapat diketahui dengan pembuatan kurva pertumbuhan, hingga diperoleh hasil berupa waktu inkubasi bakteri yang optimal dalam menghasilkan enzim selulase. Isolat bakteri selulolitik sebanyak 2 ose diinokulasikan pada media CMC *broth* 1% sebanyak 15 mL, kemudian di *shacker* pada suhu 37⁰C selama 18 jam dengan kecepatan 150 rpm. Sebanyak 12 mL masing-masing stok dipindahkan ke erlenmeyer yang berisi 120 mL media CMC *broth* dan di *shacker* kembali. Diambil inokulum 1,5 mL setiap 2 jam sekali untuk dilakukan pengukuran OD (*Optical density*) atau kepadatan sel menggunakan *spektrofotometer UV-Vis* dengan panjang gelombang 600 nm (Baharuddin *et al.*, 2014). Pengukuran dilakukan sampai nilai OD menurun atau menunjukkan fase

kematian. Kurva pertumbuhan dibuat dengan memplotkan nilai OD terhadap waktu inkubasi (Purkan *et al.*, 2014).

b. Pembuatan Kurva Standar Glukosa

Kurva standar atau kurva kalibrasi dibuat untuk menentukan konsentrasi kadar glukosa reduksi tertinggi. Tahap awal yaitu dengan membuat stok glukosa sebanyak 1 gram yang dilarutkan dalam 100 mL H₂O steril sehingga diperoleh perbandingan dalam 1 mL larutan mengandung 10 mg glukosa. Disiapkan larutan glukosa dengan konsentrasi berbeda yaitu 0 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 150 ppm, 200 ppm, 250 ppm dan 300 ppm. Selanjutnya dari setiap konsentrasi diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebagaimana tercantum pada **Tabel 3.1** (Murtiyaningsih *et al.*, 2017). Ditambahkan 1 mL larutan DNS ke setiap tabung reaksi dan dihomogenkan menggunakan *vortex*.

Tabel 3.1. Konsentrasi Larutan Glukosa

Konsentrasi		Akuades (ml)	Larutan stok standar glukosa (ml)
Ppm	mg/ml		
0	0.00	2.00	0.00
50	0.05	1.90	0.10
100	0.10	1.80	0.20
150	0.15	1.70	0.30
200	0.20	1.60	0.40
250	0.25	1.50	0.50
300	0.30	1.40	0.60

Hasil larutan campuran dipanaskan dalam air mendidih selama 15 menit dan didinginkan. Indikasi adanya gula reduksi pada sampel ditandai dengan perubahan warna pada larutan DNS yang memiliki warna kuning akan bereaksi dengan gula reduksi menjadi berwarna jingga kemerahan. Dilakukan pengukuran konsentrasi menggunakan *spektrofotometer* pada gelombang 540 nm dengan tiga kali pengulangan. Nilai absorbansi yang diperoleh diolah menggunakan program *Microsoft Excel* hingga diperoleh rumus persamaan reaksinya.

c. Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Berbagai Substrat

Uji Aktivitas enzim selulase pada berbagai substrat (dedak, bekatul dan onggok) dengan konsentrasi 2% (b/v). Diambil inokulum sebanyak 5 mL

kemudian diinokulasikan pada masing-masing substrat dalam 50 mL lalu diinkubasi pada skaker inkubator hingga masa bakteri berada pada fase eksponensial dan dilakukan pemanenan enzim dengan melakukan sentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 15 menit pada suhu 4⁰C. Selanjutnya hasil supernatan diambil sebanyak 2 mL dan ditambahkan reagen DNS sebanyak 1 mL. Hasil perhitungan nilai OD pada panjang gelombang 540 nm disubstitusikan sebagai nilai y pada persamaan regresi dan dimasukkan dalam rumus aktivitas enzim. Aktivitas selulase dapat ditentukan menggunakan nilai absorbansi yang dikonversikan dengan rumus (Irawati, 2016):

$$\text{Aktivitas Enzim } \left(\frac{U}{mL} \right) = \frac{C}{BM \text{ glukosa} \times t} \times \frac{H}{E}$$

Keterangan:

- C = Konsentrasi glukosa
- BM = Berat Molekul Glukosa (180 g/mol)
- t = Waktu inkubasi (menit)
- H = Volume total enzim-substrat (mL)
- E = Volume enzim (mL)

3.4.7 Identifikasi Morfologi dan Uji Katalase

a. Pewarnaan Gram

Proses identifikasi jenis bakteri salah satunya dengan melakukan pewarnaan gram sehingga diketahui perbedaan struktur dinding selnya. Teknik pewarnaan gram yaitu dengan mengambil bakteri selulolitik dengan jarum ose kemudian disuspensikan dengan akuades pada gelas objek. Gelas objek atau preparat dipanaskan menggunakan api bunsen untuk proses fiksasi hingga kering. Selanjutnya diberi tetesan larutan kristal violet sebagai zat warna utama dan didiamkan selama 1 menit lalu dibersihkan menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Tahap selanjutnya preparat ditetesi menggunakan larutan iodine selama 1 menit, kemudian dibersihkan dengan air mengalir dan dikeringkan. Pemberian larutan iodine bertujuan untuk mengintensifkan zat warna utama (Hadioetomo, 1999).

Preparat diberi tetesan larutan alkohol 96% kemudian ditunggu selama 30 detik. Alkohol berfungsi sebagai larutan pencuci sehingga dapat melunturkan zat warna utama. Dilakukan penetesan dengan larutan safranin sebagai zat warna kedua dan didiamkan selama 30 detik, kemudian dibersihkan dengan mengalirkan air dan dikeringkan. Dilakukan pengamatan preparat menggunakan mikroskop dengan pemberian minyak inersi agar diperoleh hasil pengamatan yang lebih jelas. Hasil pengamatan diperoleh hasil jika berwarna ungu merupakan bakteri gram positif, sedangkan apabila terbentuk warna merah maka termasuk kelompok bakteri gram negatif (Hadioetomo, 1999).

b. Pewarnaan Endospora

Pewarnaan endospora dilakukan dengan mengambil sedikit biakan murni menggunakan jarum ose lalu di suspensikan dengan akuades steril pada gelas objek. Tahap selanjutnya preparat difiksasi menggunakan api bunsen dan diberi tetesan pewarna *malachite green*. Pewarna *malachite green* merupakan zat warna utama yang berfungsi memberi warna hijau pada endospora (Harley & Prescott 2002 & Tortora *et al.*, 2010). Selanjutnya preparat diletakkan diatas kawat yang sudah dipanaskan diatas air mendidih selama 10 menit. Kemudian preparat dicuci dengan air mengalir secara hati-hati. Selanjutnya preparat diberi zat warna lawan berupa safranin yang memberi warna merah pada bagian sel bakteri selain pada endospore dan didiamkan selama 30 detik. Kemudian preparat dicuci kembali dengan air mengalir secara hati-hati. Preparat diamati dengan mikroskop, uji positif ditunjukkan dengan sel vegetative berwarna merah dan spora berwarna hijau (Lay, 1994).

c. Uji Katalase

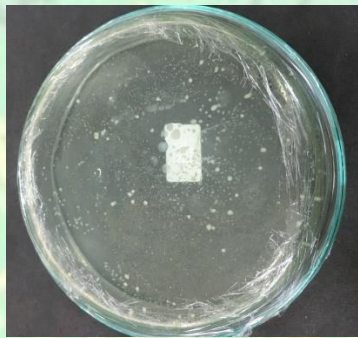
Uji katalase dilakukan dengan menginokulasikan satu ose bakteri ke *object glass* kemudiam ditetesi dengan 2-3 tetes larutan hidrogen peroksida (H_2O_2). Uji katalase positif ditunjukkan dengan gelembung O_2 yang terbentuk (Sjofjan, 2011). Tahap selanjutnya dilakukan identifikasi bakteri sampai tingkat genus melalui panduan *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology 9th* (Holt *et al.*, 1994).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

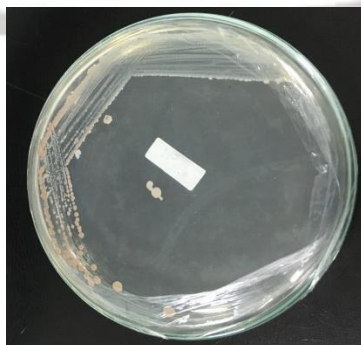
4.1 Isolasi Bakteri Selulolitik dari Jerami Padi

Isolasi bakteri merupakan proses pemisahan bakteri dari lingkungan asal ke media buatan hingga diperoleh kultur murni atau biakan murni. Proses isolasi dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat dan inokulasi teknik tuang (*pour plate*), diperoleh beberapa isolat bakteri yang memiliki karakteristik morfologi yang sama dan terpisah (**Gambar 4.1**). Isolat yang terpilih selanjutnya dimurnikan menggunakan media selektif untuk memperoleh isolat bakteri selulolitik dari sampel jerami padi.



Gambar 4.1 Bentuk Koloni Bakteri Hasil Isolasi Pengenceran 10^{-10}

Berdasarkan hasil pemurnian bakteri diperoleh 5 isolat yang dapat tumbuh pada media selektif CMC menggunakan metode inokulasi *streak kuadran* (**Gambar 4.2**) sedangkan peremajaan bakteri dilakukan pada media selektif CMC pada agar miring untuk persediaan stok kultur.



Gambar 4.2 Bentuk Koloni Pemurnian Bakteri Selulolitik

Pemurnian bakteri selulolitik menggunakan media selektif CMC karena adanya kandungan selulosa yang menunjang aktivitas enzimatis pada isolat bakteri. Menurut Begum *et al.*, (2013) bakteri selulolitik memiliki kemampuan tumbuh pada media spesifik CMC agar, menunjukkan bahwa isolat mampu memanfaatkan selulosa sebagai sumber nutrisi dan karbon. Menurut Kurniawan *et al.*, (2019) bakteri yang mampu tumbuh pada media CMC 1% dapat menjadi indikasi bahwa bakteri tersebut mampu memanfaatkan selulosa sebagai media dan nutrisi untuk kehidupannya.

Pemurnian dilakukan dengan mengambil hasil isolat yang tumbuh dengan memisahkan isolat tunggal dan menanamkan pada media baru. Keberhasilan proses pemurnian dicirikan adanya koloni tunggal dan seragamnya bentuk morfologi pada isolat meliputi bentuk, warna, tepi dan elevasi isolate (Hapsah *et al.*, 2016). Pemurnian bakteri bertujuan untuk memisahkan bakteri dengan cara memindahkan bakteri tertentu dari lingkungan asalnya untuk memperoleh kultur murni yang merupakan sel mikroba dari pembelahan satu sel tunggal (Suriawiria *et al.*, 2005).

4.1.1 Karakterisasi Morfologi Bakteri

Pengamatan morfologi koloni bakteri dengan melakukan pengamatan secara langsung hasil dari purifikasi isolat bakteri dengan metode *streak kuadran* dan ditumbuhkan pada media selektif CMC. Menurut Meryandini *et al.*, (2010) penggunaan media CMC dikarenakan adanya kandungan selulosa yang menunjang aktivitas enzimatis dan sumber karbon sebagai sumber energi sel dan unsur utama dalam pembentukan sel. Pengamatan morfologi koloni meliputi bentuk koloni (pengamatan atas), permukaan koloni (pengamatan samping), tepi koloni (pengamatan atas) dan warna koloni bakteri (Dwijoseputro, 2005). Hasil pengamatan pada lima isolat bakteri diperoleh karakter morfologi koloni yang beragam dapat dilihat pada (**Tabel 4.1**). Menurut Fitriani (2003) karakteristik morfologi koloni selalu bervariasi tergantung pada strain bakteri yang digunakan dan perbedaan sistem regulasi gen pada bakteri.

Tabel 4.1 Karakter Morfologi Bakteri dari Jerami Padi

Isolat	Bentuk	Tepi	Elevasi	Tekstur	Warna
JR 1	Bulat beraturan	Utuh	Kubah	Halus	Krem
JR 2	Bulat beraturan	Berombak	Kubah	Halus	Merah
JR 3	Bulat beraturan	Utuh	Kubah	Halus	Merah
JR 4	Tidak beraturan	Berombak	Datar	Halus	Krem
JR 5	Bulat beraturan	Berombak	Timbul datar	Halus	Krem pekat

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi diatas diperoleh karakter pada isolat JR 1, JR 2, JR 3, dan JR 5 memiliki bentuk bulat beraturan sedangkan isolat JR 4 berbentuk tidak beraturan. Tepi koloni isolat JR 1 dan JR 3 utuh sedangkan yang lainnya berombak, elevasi atau bentuk permukaan koloni JR 1, JR 2, dan JR 3 seperti kubah sedangkan JR 4 datar dan JR 5 timbul datar. Isolat JR 1 dan JR 4 berwarna krem, isolat JR 2 dan JR 3 berwarna merah dan JR 5 berwarna krem pekat dan diperoleh hasil seluruh isolat bakteri memiliki tekstur yang halus. Menurut Ochman *et al.*, (2005) karakteristik fenotip bakteri bersifat tidak statis, memungkinkan bakteri yang sama akan memperlihatkan bentuk morfologi yang berbeda.

4.2 Uji Aktivitas Bakteri Selulolitik

Uji bakteri selulolitik secara kualitatif bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi enzim selulase. Indikasi produksi enzim selulase dari bakteri ditunjukkan melalui diameter zona bening yang dihasilkan. Menurut Kurniawan (2019) perubahan warna *congo red* yang ditunjukkan dapat diartikan sebagai bakteri pendegradasi selulosa. Perhitungan pengukuran aktivitas selulolitik (Lampiran 2 & 4) dari lima isolat bakteri dan uji statistik menggunakan Uji DMRT diperoleh hasil pada **Tabel 4.2**.

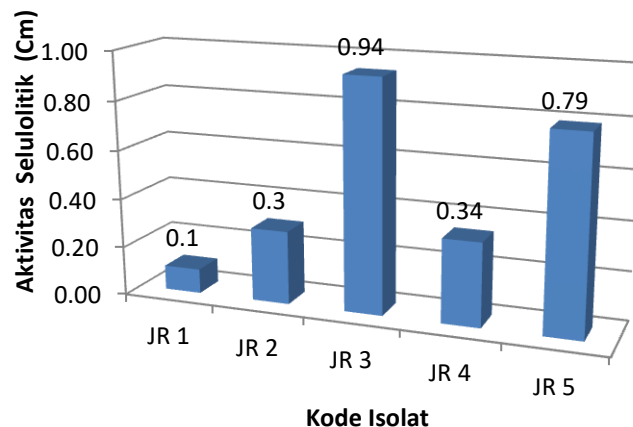
Tabel 4.2 Zona Bening Bakteri Selulolitik

Kode Isolat	Indeks Selulolitik (cm)	Notasi	Aktivitas Selulolitik
JR 1	0,10	a	Rendah
JR 2	0,30	b	Rendah
JR 3	0,94	e	Sedang
JR 4	0,34	c	Rendah
JR 5	0,79	d	Sedang

Keterangan: Notasi menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nyata berdasarkan uji DMRT 5%

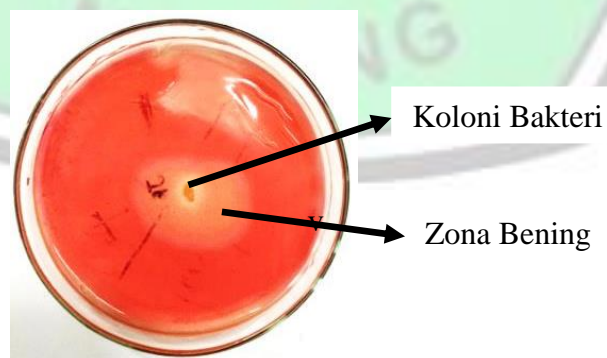
Terbentuknya zona bening di sekitar isolat menandakan aktivitas selulolitik, yaitu proses enzim selulase dalam menghidrolisis media CMC. Hasil pengukuran zona bening selanjutnya dilakukan perhitungan dengan cara mengurangkan luas diameter zona bening dengan diameter koloni dan dibagi dengan diameter koloni hingga diperoleh nilai indeks selulolitik. Isolat JR 3 dan JR 5 termasuk dalam kategori reaksi enzim sedang, sedangkan isolat JR 1, JR 2 dan JR 4 termasuk reaksi enzim rendah. Menurut Arifin *et al.*, (2019) bakteri selulolitik dapat membentuk zona bening yang berdiameter di atas 2 cm dikategorikan tinggi. Diameter pada kisaran 0,6-1,9 cm dikategorikan sedang dan diameter berkisar 0,1-0,5 cm dikategorikan rendah.

Berdasarkan analisis statistika, perbedaan aktivitas selulolitik dari isolat bakteri menunjukkan perbedaan yang nyata. Aktivitas isolat bakteri selulolitik dinotasikan dengan abjad dimana hasil nilai aktivitas tertinggi disimbolkan dengan notasi abjad tertinggi yaitu huruf 'e'. Berdasarkan Campbell *et al.*, (2002) setiap mikroorganisme memiliki gen yang berbeda sehingga sifat yang dimunculkan berbeda. Setiap gen memiliki sifat spesifik sebagai kode reaksi suatu enzim. Tinggi rendahnya aktivitas enzim selulase dari bakteri disebabkan oleh perbedaan kemampuan bakteri dalam mendegradasi substrat selulosa (Putri, 2016). Selain itu setiap bakteri selulolitik akan menghasilkan kompleks enzim selulase yang berbeda tergantung dari gen yang dimiliki dan juga sumber karbon atau substrat yang digunakan (Meryandini, 2009). Hasil aktivitas selulolitik dapat dilihat melalui grafik pada **Gambar 4.3**.



Gambar 4.3 Grafik Aktivitas Selulolitik Isolat Bakteri dari Jerami Padi

Indeks selulolitik yang terbentuk merupakan indikasi aktivitas selulase yang merupakan nisbah antara diameter zona bening dengan diameter koloni. Hasil nilai aktivitas selulolitik semakin besar maka enzim yang dihasilkan oleh mikroba juga semakin besar. Salah satu enzim yang berperan dalam proses hidrolisis selulosa menjadi glukosa adalah 1,4 β -endoglukanase yang mampu dibentuk dengan adanya zona bening pada media CMC (Hapsah, 2016). Berdasarkan hasil aktivitas selulolitik dari kelima isolat yang diperoleh terdapat pada (**Gambar 4.3**) dengan indikator perhitungan ukuran diameter zona bening dari setiap koloni yang diamati, dipilih satu isolat yang memiliki nilai indeks selulolitik paling tinggi yaitu isolat JR 3. Zona bening yang terbentuk dapat dilihat pada (**Gambar 4.4**).



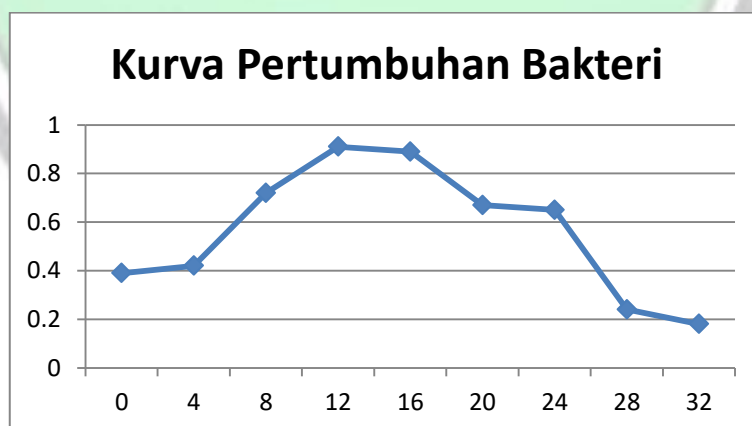
Gambar 4.4 Zona Bening Bakteri Selulolitik Isolat JR 3

Zona bening yang terbentuk menunjukkan adanya aktivitas hidrolitik oleh enzim ekstraseluler selulase yang diekskresikan oleh isolat bakteri dengan diameter tertentu. Pewarna *congo red* akan berikatan secara spesifik dengan polisakarida yang memiliki ikatan 1,4 glikosida, sedangkan warna merah menunjukkan sisa selulosa yang tidak terhidrolisis. Zona bening yang terbentuk dapat diperjelas melalui pencucian menggunakan NaCl 1 M disebabkan pewarna *congo red* merupakan garam natrium dari benzidinediazo-bis-1 naphthylamine-4, asam sulfonat ($C_{20}H_{12}N_6Na_2O_6S_2$) yang merupakan pewarna yang dapat larut dan tercuci oleh garam natrium seperti NaCl (Murtiyaningsih, 2017).

4.2.1 Uji Aktivitas Enzim Selulase

4.2.1.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri

Pengukuran kurva pertumbuhan bakteri selulolitik menggunakan isolat bakteri yang memiliki hasil indeks selulolitik paling luas yaitu isolat JR 3. Kurva pertumbuhan dibuat agar diperoleh informasi waktu inkubasi yang optimal pada bakteri dalam memproduksi enzim selulase. Pengamatan kurva pertumbuhan bakteri dilakukan dengan interval waktu 2 jam hingga diperoleh penurunan nilai OD. Nilai densitas optik diukur dari kekeruhan bakteri pada media CMC broth pada panjang gelombang 600 nm. Menurut Oktavia *et al.*, (2018) kekeruhan dalam media biakan menunjukkan bertambahnya jumlah dan ukuran bakteri. Hasil kurva pertumbuhan ditunjukkan dengan membuat plot antara nilai densitas optik dan waktu inkubasi (**Gambar 4.5**).



Gambar 4.5 Grafik Kurva Pertumbuhan Bakteri Selulolitik Isolat JR 3

Berdasarkan grafik kurva pertumbuhan diatas menunjukkan fase pertumbuhan bakteri meliputi fase adaptasi (*lag phase*), fase eksponensial (*log phase*), fase statis (*stasioner phase*), dan fase kematian (*death phase*) (Wahyuni, 2017). Fase adaptasi ditunjukkan pada jam ke-0 sampai jam ke-2 yaitu laju pertumbuhan bakteri belum terlihat karena proses adaptasi dengan lingkungan baru. Fase eksponensial isolat bakteri JR 3 terjadi pada jam ke-2 sampai jam ke-12 ditandai dengan terjadinya peningkatan pertumbuhan bakteri secara terus menerus. Hal tersebut ditandai dengan tingginya nilai OD dan naiknya grafik pada kurva pertumbuhan bakteri. Menurut Melati (2014) pada fase logaritmik pertumbuhan bakteri meningkat signifikan karena terjadi pembelahan sel bakteri yang sangat cepat. Sesuai dengan pernyataan Oktavia *et al.*, (2018) fase logaritmik bakteri telah beradaptasi baik dengan lingkungannya dan telah menerima kebutuhan nutrisi sehingga terjadi peningkatan jumlah sel bakteri.

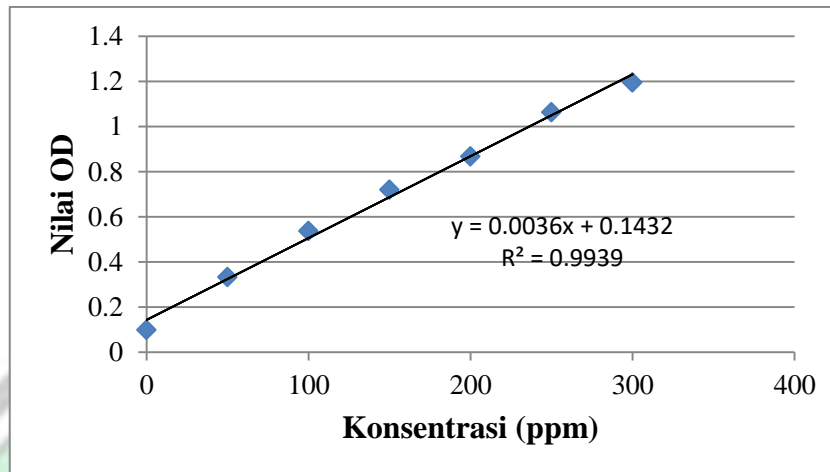
Fase selanjutnya terjadi cukup singkat yaitu pada jam ke-12 sampai jam ke-16, ditunjukkan melalui garis horizontal pada (**Gambar 4.5**) bakteri mengalami fase stasioner yang mana jumlah bakteri yang tumbuh sama dengan yang mati. Menurut Melati (2014) fase stasioner merupakan fase dimana laju pertumbuhan sama dengan laju kematian bakteri sehingga jumlah keseluruhan bakteri akan tetap. Selanjutnya bakteri akan mengalami penurunan laju pertumbuhan ditandai dengan nilai OD pada grafik semakin menurun yang terjadi pada mulai jam ke-16 hingga akhir. Menurut Melati (2014) dalam penelitiannya menyatakan bahwa pada fase kematian terjadi penurunan produksi enzim selulase karena banyaknya sel yang mengalami lisis.

Berdasarkan hasil kurva pertumbuhan dari isolat bakteri JR 3 dapat diketahui bahwa masa inkubasi yang optimal untuk menunjang produksi enzim selulase yaitu pada jam ke-12 dimana bakteri berada pada fase akhir eksponensial dan mulai memasuki fase stasioner. Menurut *et al.*, (2002) puncak aktivitas selulase berada pada saat sel mencapai fase stasioner mendekati kematian.

4.2.1.2 Penentuan Aktivitas Enzim Selulase dengan Metode DNS

Penentuan aktivitas enzim selulase diperoleh gula reduksi yang dihasilkan ditunjukkan melalui perubahan warna pada larutan DNS yang semula berwarna

kuning akan menimbulkan perubahan warna menjadi jingga kemerahan. Berdasarkan penelitian, semakin tinggi nilai OD yang diperoleh, ditunjukkan dengan perubahan warna pada sampel yang semakin pekat. Sesuai dengan pernyataan Yasin (2017) bahwa semakin pekat warna DNS yang ditunjukkan, maka semakin banyak gula yang tereduksi.



Gambar 4.6 Kurva Standar Glukosa

Kurva standar glukosa dibuat dengan variasi konsentrasi glukosa 0, 50, 100, 150, 200, 250, dan 300 ppm. Penggunaan larutan glukosa sebagai kurva standar karena glukosa termasuk gula reduksi yang dihasilkan dari hidrolisis selulosa oleh enzim selulase. Hasil kurva standar glukosa diperoleh persamaan linier $y = 0,0036x + 0,1432$ dengan nilai korelasi (R^2) sebesar 0,9939 (**Gambar 4.6**). Persamaan ini berfungsi untuk mengetahui kadar gula reduksi sebagai produk dari reaksi enzim selulase pada masing-masing isolat bakteri yang diuji. Kadar gula reduksi dihitung dengan mensubstitusikan nilai absorbansi ekstrak kasar enzim selulase dalam persamaan regresi kurva standar glukosa.

4.2.1.3 Aktivitas Enzim Selulase pada Berbagai Jenis Substrat

Pengujian aktivitas enzim selulase dalam berbagai substrat yang digunakan dilakukan pada saat bakteri mampu memproduksi enzim selulase secara maksimal yaitu berada pada fase akhir eksponensial menuju stasioner. Sesuai dengan pernyataan Suhartono (1992) bahwa sintesis enzim ekstraseluler terjadi sebelum sporulasi, yaitu pada akhir fase eksponensial dan awal fase stasioner. Pada saat fase tersebut proses sintesis enzim selulase akan meningkat

karena terjadi masa transisi fase eksponensial diikuti dengan penurunan jumlah sumber karbon dalam media tumbuh.

Aktivitas enzim selulase diuji pada berbagai substrat (bekatul, dedak dan onggok) dilakukan pada saat bakteri berada pada fase log akhir yaitu pada jam ke 12. Perhitungan nilai OD diperoleh dari pengukuran dengan *spektrofotometer* pada panjang gelombang 540 nm disubstitusikan sebagai nilai y pada persamaan regresi dan dimasukkan dalam rumus aktivitas enzim (Lampiran 3) hasil perhitungan sebagaimana dapat dilihat pada **Tabel 4.3**.

Tabel 4.3 Data Aktivitas Enzim Selulase yang Dihasilkan Isolat JR 3 pada Berbagai Jenis Substrat

Substrat	Rata-rata Aktivitas (U/mL)	Notasi
Bekatul	$153,6 \times 10^{-4}$	Ab
Dedak	$316,6 \times 10^{-4}$	B
Onggok	$28,0 \times 10^{-4}$	A

Berdasarkan data diatas diketahui bahwa isolat bakteri JR 3 yang diisolasi dari jerami padi memiliki aktivitas enzim selulase pada beberapa jenis substrat. Rata-rata aktivitas enzim selulase bekerja paling tinggi pada substrat dedak yaitu mencapai $316,6 \times 10^{-4}$ U/mL, dapat diartikan bahwa dalam jumlah demikian merupakan jumlah enzim yang dibutuhkan untuk memecah $316,6 \times 10^{-4}$ μ mol selulosa menjadi gula pereduksi dalam waktu inkubasi 60 menit. Hasil perhitungan rata-rata aktivitas enzim dari substrat bekatul adalah $153,6 \times 10^{-4}$ dan nilai paling rendah pada substrat onggok. Berdasarkan hasil perhitungan tersebut, dapat diketahui bahwa sumber substrat berpengaruh terhadap aktivitas enzim yang dihasilkan oleh bakteri.

Berdasarkan analisis statistika (lampiran 5), pada uji ANOVA dengan tingkat ketelitian 5% menunjukkan nilai signifikansi $0,026 < 0,05$ menunjukkan lebih besar dari 0,05 artinya terdapat pengaruh jenis substrat terhadap ulangan yang diberikan. Hasil uji DMRT 5% diperoleh nilai paling rendah pada substrat onggok dengan notasi 'a' selanjutnya pada substrat dedak diperoleh nilai paling tinggi dengan notasi 'b' sedangkan pada substrat bekatul berada pada kedua substrat yang lain sehingga dinotasikan 'ab'.

Berdasarkan hasil perhitungan aktivitas enzim paling tinggi pada substrat dedak selanjutnya adalah bekatul yang mana terlampaui hampir dua kali dibawah dedak, meskipun keduanya merupakan substrat yang berasal dari produk yang sama yaitu limbah hasil penggilingan padi. Hal tersebut disebabkan oleh kandungan selulosa antara dedak dan bekatul yang tidak sama. Menurut Tim Laboratorium Fakultas Peternakan IPB dalam buku Pengetahuan Bahan Ternak menyebutkan bahwa dedak padi memiliki kandungan serat kasar sebanyak 11,6%. Sedangkan pada bekatul memiliki kandungan serat kasar sebanyak 7%. Selain itu adanya kandungan protein pada substrat dedak 12,4% dan pada bekatul sebanyak 11% (Irtandi, 2019).

Aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri berpengaruh terhadap kandungan serat selulosa pada substrat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Irawati (2016) bahwa hampir semua enzim telah membentuk kompleks enzim dan substrat. Hasil aktivitas enzim yang tinggi dari substrat dedak disebabkan kandungan seratnya yang lebih tinggi daripada bekatul. Menurut Melati (2014) semakin tinggi kadar gula pereduksi yang dihasilkan, menunjukkan semakin tinggi aktivitas hidrolisis serat kasar. Hal tersebut dapat diartikan bahwa telah terjadi proses degradasi oleh enzim selulase menjadi bentuk yang lebih sederhana yaitu gula pereduksi pada kandungan serat kasar (Moore-landecker, 1990).

Aktivitas enzim selulase pada substrat onggok terlampaui jauh dibawah dedak dan bekatul yaitu $28,0 \times 10^{-4}$. Onggok merupakan limbah padat hasil industri tapioka yang memiliki kandungan serat kasar selulosa 21,6% (Amenaghawon *et al.*, 2014). Berdasarkan persentase kandungan serat kasar pada substrat onggok lebih tinggi daripada substrat dedak dan bekatul, namun hasil aktivitas enzim terlampaui jauh lebih rendah. Hal tersebut disebabkan adanya kandungan lignin pada onggok sebanyak 17,3% sehingga menghalangi kerja enzim. Sesuai dengan pernyataan Fuadi *et al.*, (2015) enzim bekerja secara spesifik dan tidak dapat menembus lignin yang mengikat pada selulosa dan hemiselulosa. Dengan demikian, tingginya kadar selulosa pada substrat onggok tidak membuat aktivitas enzim meningkat karena terhalang oleh kandungan lignin. Menurut Febrianti (2017) lignin memiliki peran dalam mengikat selulosa secara fisik sehingga menghalangi kerja enzim selulase dalam menghidrolisis

substrat. Dalam penelitian Gunam *et al.*, (2011) hasil dari proses delignifikasi pada ampas tebu dengan sakarifikasi enzimatis menggunakan enzim selulase kasar *Aspergillus niger* diperoleh hasil gula reduksi sebesar 54,47 mg/100 mL.

Berdasarkan hasil uji aktivitas enzim selulase secara kuantitatif diatas, apabila disesuaikan dengan hasil indeks selulolitik maka termasuk dalam kelompok aktivitas enzim yang rendah hingga sedang. Menurut Baharuddin (2014) menyebutkan bahwa sisi aktif enzim yang akan berikatan dengan substrat akan sebanding dengan tinggi rendahnya kadar selulosa, karena pertumbuhan sel dan produksi enzim akan terhenti saat nutrisi yang tersedia mulai habis.

Berdasarkan hasil uji aktivitas enzim dalam menghidrolisis substrat bahan pokok pangan pada ternak, maka dapat diduga bahan pakan dedak paling baik untuk dikonsumsi hewan ternak setelah diaplikasikan pemberian enzim selulase. Hal tersebut disebabkan kerja enzim dalam menghidrolisis substrat selulosa cukup tinggi dibandingkan pada substrat bekatul dan onggok. Menurut Lamid (2008) enzim selulase berfungsi sebagai biokatalis untuk pakan berserat seperti hemiselulosa dan selulosa. Oleh sebab itu, dalam penelitian ini digunakan bakteri selulolitik sebagai objek pendegradasi selulosa melalui kerja enzim selulase. Berdasarkan hasil yang diperoleh, diharapkan dapat meningkatkan kualitas pakan ternak dengan menurunkan kadar serat didalamnya.

4.3 Identifikasi Bakteri Selulolitik

Identifikasi bakteri dilakukan melalui pengamatan mikroskopis antara lain pewarnaan gram, pewarnaan endospora dan uji katalase.

a. Pewarnaan Gram

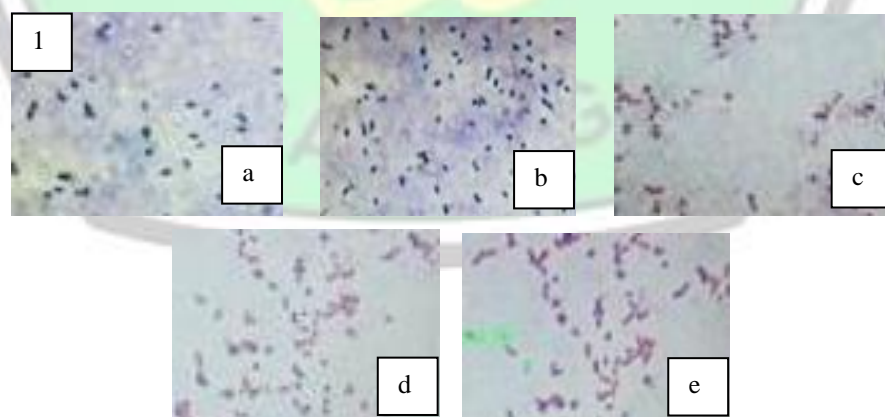
Pewarnaan gram termasuk dalam rangkaian pengamatan secara mikroskopis untuk menentukan karakter bakteri secara lebih detil. Sifat gram bakteri dan bentuk sel dapat diketahui dengan melakukan uji pewarnaan gram. Jenis bakteri gram positif akan berwarna ungu, sedangkan bakteri gram negatif akan berwarna merah. Sel bakteri selanjutnya diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali. Hasil pengamatan pewarnaan gram lima isolat bakteri dapat dilihat pada **Tabel 4.4**.

Tabel 4.4 Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Selulolitik

Kode Isolat	Jenis Gram	Bentuk Sel
JR 1	+	Kokus
JR 2	+	Kokus
JR 3	-	Kokus
JR 4	-	Kokus
JR 5	-	Kokus

Berdasarkan hasil pewarnaan gram bakteri pada lima isolat berbentuk kokus dengan rata-rata memiliki ukuran 6 μm sampai 10 μm . Menurut Pratiwi (2008) bentuk kokus pada bakteri yaitu memiliki bentuk bulat seperti bola-bola kecil yang bergerombol dan bergandenganan membentuk koloni. Isolat bakteri JR 1 dan JR 2 merupakan jenis bakteri gram positif ditunjukkan dengan koloni bakteri berwarna ungu, sedangkan isolat JR 3, JR 4 dan JR 5 termasuk bakteri gram negatif ditunjukkan hasil koloni berwarna merah. Menurut Lay (1994) hasil koloni berwarna ungu disebabkan kompleks zat warna kristal violet-yodium tetap dapat bertahan meskipun setelah diberi larutan alkohol. Sedangkan hasil koloni gram negatif berwarna merah disebabkan kompleks tersebut larut saat diberi larutan alcohol sehingga warna yang merah yang terbentuk dari safranin.

Menurut Hapsoh (2016) sebagian besar bakteri selulolitik memiliki bentuk kokus yang berstruktur dinding sel Gram positif dan berbentuk basil dengan tipe dtruktur dinding sel Gram negatif. Hasil pewarnaan gram dapat dilihat pada **Gambar 4.7**.



Gambar 4.7 Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Selulolitik
1) kokus; a) JR 1; b) JR 2; c) JR 3; d) JR 4; e) JR 5

Hasil perbedaan warna yang terbentuk dari setiap isolat bakteri disebabkan adanya perbedaan struktur dan ketebalan dinding sel. Dinding sel bakteri Gram

positif lebih banyak mengandung peptidoglikan daripada bakteri Gram negatif. Menurut Levinson (2016) peptidoglikan merupakan jaringan kompleks yang mengelilingi seluruh sel dan terdiri dari makromolekul tunggal yang terhubung secara kovalen. Bakteri Gram positif akan mengikat zat warna kristal violet dan iodine sehingga terperangkap ke dalam sel oleh multilayer peptidoglikan dinding sel. Pada bakteri gram negatif zat warna kristal violet dan iodine akan mudah lepas ketika dekolorisasi dengan alkohol. Menurut Suhartanti *et al.*, (2010) dekolorisasi dengan alkohol akan melarutkan lipid dan membran luar sel bakteri gram negatif. Penambahan zat warna safranin akan diikat oleh bakteri Gram negatif yang tidak berwarna menjadi merah sedangkan bakteri Gram positif tidak akan menyerap warna lain kembali. Sesuai dengan pernyataan Sukmawati (2018) bahwa kandungan presentase lipid pada dinding sel bakteri Gram negatif umumnya tidak lebih tebal daripada dinding sel Gram positif.

b. Pewarnaan Endospora

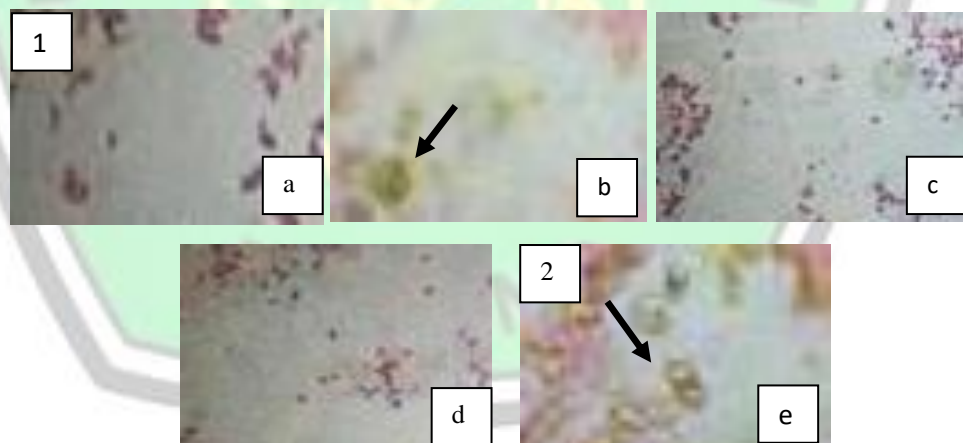
Metode pewarnaan spora bertujuan untuk mempermudah dalam pengamatan sekaligus membedakan dengan bentuk sel vegetatifnya. Menurut Pelczar (2008) endospora merupakan struktur dari dinding sel bakteri yang tebal, sangat reaktif dan sangat resisten, dihasilkan oleh semua spesies *Bacillus*, *Clostridium* dan *Sporosarcina*. Bakteri memiliki sel vegetatif yang secara normal dapat bereproduksi dengan membelah diri pada kondisi lingkungan normal. Namun pada kondisi tertentu bakteri dapat bersifat inaktif atau dorman dan membentuk struktur yang disebut endospora (Pelczar, 2008).

Menurut Waluyo (2019) adanya endospora disebabkan lingkungan yang tidak menguntungkan karena kurangnya sumber karbon, energi dan fosfat. Selain itu dapat pula disebabkan karena bahan bersifat toksik, suhu yang tidak sesuai atau lingkungan yang hipotonik. Uji pewarnaan endospora selanjutnya dilakukan pengamatan pada mikroskop dengan perbesaran 1000 kali dapat dilihat pada **Tabel 4.5.**

Tabel 4.5 Pewarnaan Endospora Isolat Bakteri Selulolitik

Kode Isolat	Jenis Endospora
JR 1	-
JR 2	+
JR 3	-
JR 4	-
JR 5	+

Berdasarkan data pada diatas diperoleh hasil positif pada isolat JR 2 dan JR 5 ditandai dengan adanya sel endospora yang berwarna hijau sedangkan pada isolat bakteri yang lain tidak ditemukan sel endospore. Hasil endospora positif ditunjukkan dengan sel vegetatif memiliki warna merah dan sel endospora memiliki warna hijau. Menurut Lay (1994) terbentuknya warna merah pada sel vegetative bakteri dan warna hijau pada spora di dalam sel menunjukkan uji pewarnaan endospora positif, dan apabila terdapat warna merah pada sel vegetative namun tidak terdapat spora maka hasilnya negatif. Zat warna yang berperan dalam proses ini yaitu pewarna *malachite green* dimana memiliki ikatan pada spora bakteri seusai dibersihkan dengan air dan larutan pewarna safranin (Fardiaz, 1987). Hasil uji pewarnaan endospora pada **Gambar 4.8**.



Gambar 4.8 Hasil Pewarnaan Endospora Bakteri Selulolitik
1) negatif endospora; 2) positif endospora; a) JR 1;
b) JR 2; c) JR 3; d) JR 4; e) JR 5

Proses pewarnaan spora membutuhkan pemanasan untuk membuat lapisan spora dapat mengembang dan zat warna dapat meresap ke dalam spora. Zat warna pertama (*malachite green*) akan memberi warna endospora menjadi hijau dan zat

warna kedua (safranin) akan memberi warna merah pada sel vegetatif. Kedua zat warna tersebut tidak berikatan erat dengan dinding sel dan sitoplasma sehingga mudah terlepas saat pencucian dengan air. Sebaliknya, air tidak dapat menembus dinding endospora sehingga spora tetap berwarna hijau sewaktu pencucian dengan air (Lay, 1994). Berdasarkan hasil uji endospora pada isolat JR 3 diperoleh hasil negatif sehingga dapat dikategorikan merupakan bakteri nonpatogen. Menurut Pratita (2012) endospora merupakan struktur yang rentan terhadap keadaan lingkungan yang ekstrim seperti pemanasan, kering dan keadaan asam.

c. Uji Katalase

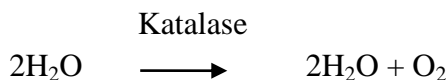
Uji katalase dilakukan dengan tujuan memperoleh informasi jenis bakteri mempunyai enzim katalase yang berfungsi untuk mereduksi efek toksis H_2O_2 . Hal tersebut ditandai dengan terbentuknya gelembung gas yang menandakan bahwa bakteri bersifat aerobik sehingga uji katalase tersebut positif (Lay, 1994). Menurut Suhartanti *et al.*, (2010) pada umumnya bakteri aerob akan menunjukkan reaksi positif dengan uji katalase. Hasil uji katalase ditunjukkan pada **Tabel 4.6**.

Tabel 4.6 Uji Katalase Isolat Bakteri Selulolitik

Kode Isolat	Hasil
JR 1	+
JR 2	+
JR 3	+
JR 4	+
JR 5	+

Berdasarkan data diatas menunjukkan hasil positif pada semua isolat dengan terbentuknya gelembung gas O_2 sehingga dapat diartikan bahwa semua bakteri bersifat aerobik. Sesuai dengan pernyataan Pelczar (1986) bahwa bakteri bersifat aerob ditunjukkan dengan adanya gelembung udara, sedangkan bakteri bersifat anaerob ditunjukkan dengan tidak adanya gelembung udara (negatif). Gelembung gas yang dihasilkan berasal dari hidrogen peroksida (H_2O_2) yang terurai menjadi air dan oksigen oleh aktivitas enzim katalase. Senyawa ini bersifat toksik terhadap sel karena dapat menginaktifkan enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk saat terjadi metabolisme aerob sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob pasti menguraikan bahan tersebut (Lay, 1994).

Reaksi enzim katalase dengan H_2O_2 sebagai berikut:



Mikroorganisme memproduksi anion superoksida (O_2^-) dalam keadaan ada oksigen (O_2). Adanya enzim dismutase superoksida yang mengubahnya menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2) menimbulkan mikroorganisme aerob dapat bertahan hidup dari toksisitas anion superoksida (Volk dkk, 1988). Bakteri selulolitik aerob dapat menggunakan sumber karbon lain di samping glukosa. Sedangkan bakteri selulolitik anaerob hanya dapat tumbuh pada sumber selulosa dan produk selulolitiknya (Yusnia *et al.*, 2019).

Hasil karakterisasi makroskopis dan mikroskopis isolat JR 3 menunjukkan bahwa bakteri selulolitik merupakan genus *Neisseria* karena memiliki bentuk kokus, Gram negatif, uji katalase positif dan endospora negatif yang didasarkan pada buku *Bergey's Manual Determination Bacteriology*. Menurut Supriyatna *et al.*, (2012) genus *Neisseria* memiliki ciri berbentuk kokus, kubus, terpisah dan berkelompok, non motil, gram negative, aerob, anaerob fakultatif dan anaerob, temperature optimum 37^0C dan ukuran sel $<0,5$ mm. Genus *Neisseria* memiliki aktivitas enzim hidrolitik pada substrat *cellulose acetate*, CMC dan xylan.

4.4 Kedudukan Bakteri Selulolitik dan Enzim Selulase dalam Perspektif

Al-Qur'an

Bakteri merupakan salah satu mikroorganisme yang mampu memproduksi enzim sebagai sumber energy untuk pertumbuhannya. Produksi enzim oleh bakteri merupakan tanda kebesaran Allah SWT bagi manusia agar berfikir.

Allah berfirman dalam Surat Al-Hijr (15) ayat 20:

وَجَعَلْنَا لَكُمْ فِيهَا مَعِيشَ وَمَنْ لَّسْنُمْ لَهُ بَرْزَقِينَ

Artinya: “dan Kami telah menjadikan untukmu di bumi keperluan-keperluan hidup, dan (Kami menciptakan pula) makhluk-makhluk yang kamu sekali-kali bukan pemberi rezki kepadanya”

Berdasarkan Tafsir Kemenag RI (2006) dijelaskan bahwa Allah SWT telah menyediakan segala keperluan hidup manusia berupa tanah yang subur yang dapat ditanami dengan tanam-tanaman yang berguna dan merupakan kebutuhan pokok

manusia. Allah SWT menjadikan manusia, tanaman, dan berbagai jenis binatang yang telah Allah sediakan rezekinya. Dialah yang menciptakan segala macam sumber kesenangan bagi manusia itu. Hal serupa juga pada penciptaan Allah terhadap bakteri yang dapat memproduksi enzim selulase.

Enzim secara umum berfungsi sebagai biokatalisator dalam suatu reaksi, sebagaimana enzim selulase yang memiliki fungsi pada bidang industry, agen biodegradasi limbah, dan meningkatkan nilai cerna pakan (Zhang *et al.*, 2006). Allah SWT tidak menciptakan segala sesuatu di dunia tanpa ada manfaat dan hikmah yang besar, sebagaimana dalam Firman Nya dalam Q.S Ali Imron (3) ayat 191:

... رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ بَدَأً بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ

Artinya : ...”Ya Tuhan kami, tidaklah Engkau menciptakan semua ini sia-sia; Mahasuci Engkau, lindungilah kami dari azab neraka.”

Berdasarkan tafsir Al-Misbah (2002) dijelaskan bahwa salah satu ciri Ulu al-Albab selalu merenungkan kebesaran Allah seperti penciptaan langit dan bumi, serta keunikan yang lainnya. Segala sesuatu yang Allah ciptakan pasti mengandung hikmah didalamnya, termasuk penciptaan enzim. Enzim merupakan produk bioteknologi yang dapat berperan dalam bidang industri. Salah satunya adalah enzim selulase yang dapat diaplikasikan pada industri kertas, tekstil, makanan, dan detergen. Selain itu, enzim selulase dapat berperan sebagai biodegradable sehingga berfungsi untuk meningkatkan kualitas nutrisi pakan ternak (Ibrahim dan El-diwany, 2007).

Enzim dapat dihasilkan dari berbagai jenis organisme seperti pada tanaman, binatang maupun mikroba. Enzim yang dihasilkan oleh mikroba dapat memproduksi lebih tinggi daripada tumbuhan dan hewan (Hidayat, 2006). Mikroba yang sering digunakan sebagai agen peghasil enzim adalah bakteri dan fungi, karena biodiversitas mikroba yang tinggi sehingga dapat menghasilkan enzim dan dieksplorasi secara terus-menerus. Selain itu, enzim yang dihasilkan dari mikroba memiliki laju yang cepat dan dengan biaya yang tidak mahal (Retledge, 2001).

Mikroba merupakan organisme yang diciptakan Allah SWT dengan segala kekuasaan Nya. Firman Allah dalam Q.S Al-Maidah ayat 120:

لِلَّهِ مُلْكُ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ وَمَا فِيْهِنَّ ۚ وَهُوَ عَلٰى كُلِّ شَيْءٍ قَدِيْرٌ

Artinya: *Kepunyaan Allah lah kerajaan langit dan bumi dan apa yang ada di dalamnya, dan Dia Maha Kuasa atas segala sesuatu*

Berdasarkan Tafsir Al-Misbah (2002) ayat tersebut menjelaskan bahwa segala sesuatu di langit dan bumi merupakan kepunyaan Allah. Dia yang memiliki kekuasaan yang sempurna untuk mewujudkan segala kehendakNya. Allah SWT menciptakan beranekaragam jenis makhluk hidup dengan segala kedudukannya, termasuk bakteri yang termasuk dalam mikroorganisme. Makhluk hidup yang sangat kecil namun dengan kuasa Nya memiliki kemampuan yang luar biasa salah satunya dalam memproduksi enzim dan dimanfaatkan oleh manusia. Enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri berfungsi dalam proses degradasi kandungan selulosa pada beberapa jenis pakan ternak seperti dedak, bekatul dan onggok. Dengan demikian diharapkan dapat berfungsi untuk meningkatkan kualitas pakan ternak dengan menurunkan kadar serat didalamnya, sehingga produk pakan lebih konsumtif.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Isolat bakteri selulolitik yang diperoleh dari isolasi jerami padi dengan karakteristik berbeda diperoleh 5 isolat yaitu JR 1, JR 2, JR 3, JR 4, dan JR 5.
2. Aktivitas enzim selulase dari isolat bakteri selulolitik JR 3 pada substrat bekatul, dedak dan onggok diperoleh hasil aktivitas tertinggi pada substrat dedak sebesar 316×10^{-4} , substrat bekatul sebesar $153,6 \times 10^{-4}$ dan substrat onggok paling rendah yaitu 28×10^{-4} . Berdasarkan hasil tersebut maka dapat diduga bahan pakan 'dedak' paling baik untuk dikonsumsi hewan ternak setelah diaplikasikan pemberian enzim selulase.
3. Hasil identifikasi berdasarkan pewarnaan gram, endospora dan uji katalase bakteri selulolitik dengan aktivitas hidrolisis paling tinggi yaitu JR 3 termasuk dalam genus *Neisseria*.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, perlu adanya penelitian lanjutan pada substrat selulosa yang tidak mengandung lignin (delignifikasi) sehingga aktivitas enzim selulase lebih maksimal. Serta dilakukan pengujian langsung pada hewan ternak dengan pengaplikasian enzim selulase pada bahan pokok pangan ternak sehingga menunjang untuk didapatkan produk pakan ternak yang lebih konsumtif.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, Z. (2011). Produksi Enzim Selulase oleh *Aspergillus Niger* Menggunakan Substrat Jerami dengan Sistem Fermentasi Padat. *Jurnal Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik*, UNDIP Bandung.
- Agus, C., Eny, F., Dewi, W., & Benito, H. P. (2014). Peran Mikroba Starter dalam Dekomposisi Kotoran Ternak dan Perbaikan Kualitas Pupuk Kandang. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*, 21 (1), 179-187.
- Ambriyanto, Kurniawan Sarju. (2010). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Pendegradasi Selulosa dari Serasah Daun Rumpun Gajah (*Pennisetum Purpureumschaum*). *Tugas Akhir*. Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Amelia, G., Hindayani, Saskiawan, Kusniatidan, C. (2005). Isolasi dan Pengujian Aktivitas Enzim Amylase dan Protease Mikroba dari Terasi Asal Kalimantan Timur. *Laporan Teknik. Bidang Mikrobiologi*. Bogor: Pusat Penelitian Biologi, LIPI.
- Amenaghawon, N. A., Samuel, E. O. & Charity, O. O. (2014). Application of Statistical Experimental Design for the Optimisation of Dilute Sulphuric Acid Hydrolysis of Cassava Bagasse. *Acta Polytechnica Hungarica*, 11, 242-243.
- Arifin, Zainul., Ida B. W. G., Nyoman, S. A & Yohanes, S. (2019). Isolasi Bakteri Selulolitik Pendegradasi Selulosa dari Kompos. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7 (2).
- Arnata I. W. (2009). Pengembangan Alternatif Teknologi Bioproses Pembuatan Bioetanol dari Ubi Kayu Menggunakan *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*. *Tesis*. Magister Sains, Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Asadullah, M. (2014). Isolasi Bakteri Amilolitik dari Bekatul dan Uji Kemampuan untuk Produksi Enzim Amilase Kasar pada Berbagai Jenis Media Produksi. *Skripsi*. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Malang.
- Astawan, Made. (2009). *Sehat dengan Hidangan Kacang dan Biji-bijian*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Asy-syuyuti, Jalaludin & Jalaluddin Muhammad, I., A., A. (1505). *Tafsir Jalalain*. Kairo Mesir
- Baharuddin, M., Abdul, R. P., Ahyar, A., nursiah, L. N. (2014). Aktivitas Enzim Selulase Kasar dari Isolat Bakteri Larva *Cossus cossus* dalam Hidrolisis Jerami Padi. *Jurnal Kimia Valensi*, 4 (2), 128-133.
- Begum, S., Meignanalaksmi & Dhevi, P. (2013). Isolation and Characterization of Cellulase Producing *Paracoccus Pantotrophus* FMR19 (JX012237) from Goat Rumen Fluid and its Effects on pH, Temperature and Carbon Sources. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research*. 4 (3), 384-390.
- Belitz, H. D & W. Grosch. (2009). *Food Chemistry Second Edition*. Berlin: Springer.
- Campbell, N. A., Reece, J. B. & Mitchel, L. G. (2003). *Biologi Edisi Kelima Jilid 1*. Jakarta: Erlangga.

- Darwis, A. A., & E, Sukara. (1990). Isolasi, Purifikasi dan Karakterisasi Enzim. PAU Bioteknologi. *IPB.Bogor*.
- Fan, Z. (2003). Conversion of Paper Sludge to Ethanol, II: Proces Design and Economic Analysis. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 26 (2).
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pengolahan Pangan*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB
- Febrianti, T., Oedjijono, & Ning Iriyanti. (2017). Peningkatan Nutrien Onggok dan Dedak sebagai Bahan Baku Pakan Melalui Fermentasi Menggunakan *Azospirillum* sp. JG3. *Widyarise*, 3 (2), 173-182.
- Fessenden, R. J. & J. S. Fessenden. (1994). *Kimia Organik Jilid 2*. Erlangga: Jakarta.
- Fitri, Desi Sari. (2017). Isolasi dan Identifikasi Jamur Selulolitik pada Usus Rayap (*Macrotermes* sp.) dalam Media Serbuk Jerami Padi (*Oryza Sativa*). *Repository upi*.
- Fitriani, Emy. (2003). Aktivitas Enzim Karboksilmetil Selulase *Bacillus pumilus* Galur 55 pada Berbagai Suhu Inkubasi. *Skripsi*. Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Fuadi, Ahmad M & Kun Harismah. (2017). Perbandingan Efektifitas Pembuatan Glukosa dari Kertas Bekas Secara Hidrolisis Asam dan Enzim. *Jurnal Teknologi Bahan Alam*, 1(1).
- Fuadi, AM., Kun, H., & Adi, S. (2015). Pengaruh Suhu dan pH terhadap Banyaknya Yield (Kadar Glukosa) yang Dihasilkan pada Proses Hidrolisis Enzimatis dari Limbah Kertas. *Simposium Nasional RAPI XIV*, FT UMS.
- Gunam, I. B. W., Ni Made, W., Anak, A. M. D. A. & Pande, M. S. (2011). Delignifikasi Ampas Tebu dengan Larutan Natrium Hidroksida sebelum Proses Sakaraifikasi secara Enzimatis menggunakan Enzim Selulase Kasar dari *Aspergillus Niger* FNU 6018. *LIPI Press*, 34.
- Hadioetomo, R. S. (1999). *Mikrobiologi Pangan dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: Gramedia.
- Han, Ye Jun & H. Z., Chen. (2007). Synergism Between Corn Stover Protein and Cellulose. *Enzyme and microbial technology*, 41, 638-645.
- Hanafi, Nevy Diana. (2008). *Teknologi Pengawetan Pakan Ternak*. Departemen Peternakan Fakultas Pertanian. Medan: Universitas Sumatra Utara.
- Hapsoh, Wawan, Isna, R. D. & Dwiora. (2016). Isolasi Bakteri Selulolitik Pendegradasi Limbah Jerami Padi di Lahan Gambut. *Prosiding Seminar Nasional BKS PTN Wilayah Barat Bidang Ilmu Pertanian*.
- Hargrove, K. L. (1994). Processing and Utilization of Rice Bran In The United State. *Ricescience and Technology: Marcel Dekker Inc*. New York.
- Harley & Presscot. (2002). *Laboratory Exercise in Microbiology*. USA: McGraw-Hill Publisher.
- Hasanah, Nur & Iwan Saskiawan. (2015). Aktivitas Selulase Isolat Jamur dari Limbah Media Tanam Jamur Merang. *J. Prosedium Seminar Masyarakat Biodiv Indonesia*, 1 (5).
- Hidayat, Nur. (2006). *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: Andi.
- Holt, J. G. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Ed. A Wolters Kluwer Company*. Philadelphia, 562-570.

- Ibrahim ASS, El-diwany AL. (2007). Isolation and Identification of New Cellulases Producing thermophilic Bacteria from an Egyptian Hot Spring and Some Properties of the Crude Enzyme. *J Appl Sci.* 1, 473-478.
- Indriyanto, Iwan. (1995). Pengaruh Suhu dan Waktu Inkubasi terhadap Produksi Enzim α -amilase oleh *Bacillus subtilis* dalam Media Bekatul. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmi Pengetahuan Alam, Universitas Diponegoro Semarang.
- Irawati, Rosyida. (2016). Karakterisasi pH, Suhu dan Konsentrasi Substrat pada Enzim Selulase Kasar yang Diproduksi oleh *Bacillus Circulans*. *Skripsi*. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Irtandi, Lilis Latifah. (2019). Korelasi Konsentrasi Daging Sapi dan Konsentrasi Bekatul terhadap Karakteristik Sosis. *Tugas Akhir*. Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan Bandung.
- Kemenag RI. (2006). *Al-Qur'an dan Terjemahnya*. Bandung: Diponegoro.
- Khadijah, Jaka. (2012). Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Amilase dari Bakteri Termofilik pada Sumber Air Panas Desa Pincara Kecamatan Masamba Kabupaten Luwu Utara. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar.
- Khatiwada, P., Jahed, A. Mehadi, H. S., Kamrul, I., Abul, K. A. (2016). Isolation, Screening and Characterization of Cellulase Producing Bacterial Isolates from Municipal Solid Wastes and Rice Straw Wastes. *J Bioprocess Biotech*, 6 (4), 2155-9821.
- Kurniawan, A., Suci, P. S., Euis, A., Andi, K., Abu, B. S., Ira, T., Asep, A. P. (2019). Kapasitas Hidrolisis Bakteri Pendeградasi Selulosa dari Ekosistem Mangrove. *Journal of Tropical Marine Science*, 2 (2), 76-82.
- Ladeira, Silvania. (2015). Cellulase Production by Thermophilic *Bacillus* sp. SMIA-2 and Its Detergent Compatibility. *Electronic Journal of Biotechnology*.
- Lamid, M. (2008). Optimalisasi Potensi Enzim Xilanase Produksi Mikroba Rumen dalam Biodegradasi Hemiselulosa pada Jerami Padi sebagai Strategi Pemberian Pakan Ruminansia. *Universitas Brawijaya*.
- Lay, B. W. (1994). *Analisis Mikroba di Laboraturium*. Jakarta: PT. Gradindo Persada
- Lehninger, A. L. (1982). *Dasar-dasar Biokimia Jilid 1*. Erlangga: Jakarta.
- Luthfianto, D., Retno, D. N., Indah, K., (2017). Karakterisasi Kandungan Zat Gizi Bekatul pada Berbagai Varietas Beras di Surakarta. *The 6th University Research Colloquium*, Universitas Muhammadiyah Magelang.
- Lymar, E.S., B. Li & V. Renganathan. (1995). Purification and Characterization of a Cellulosebinding β -glucosidase From Cellulose Degrading culture of *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl. Environ. Microbiol*, 61, 2976-2980.
- Makarim, A. K., E. Suhartatik, & A. Kartohardjono. (2007). Silikon: Harapenting pada Sistem Produksi Padi. *Iptek Tanaman Pangan*, 2(2).
- Martina, A., Yuli, N., & Sutisna, M. (2002). Optimasi beberapa Faktor Fisik terhadap Laju Degradasi Selulosa Kayu Albasia *Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen dan Karboksimetilselulosa (CMC) secara Enzimatis oleh Jamur. *J. Natur*, 4, 156-163.

- Melati, I., & Mas Tri, D. S. (2016). Pengaruh Enzim Selulase *Bacillus subtilis* terhadap Penurunan Serat Kasar Kulit Ubi Kayu untuk Bahan Baku Pakan Ikan. *Widyaiset*, 2 (1), 57-66.
- Melati, I., Mulyasari., Mas, T. D. S., Maria, B. & Titin, K. (2014). Produksi Enzim Selulase dari Bakteri TS2b yang Diisolasi dari Rumpun Laut dan Pemanfaatannya dalam Menghidrolisis Kulit Ubi Kayu dan Daun Ubi Kayu sebagai Bahan Baku Pakan Ikan. *J. Ris. Akuakultur*, 9 (2), 263-270.
- Meryandini, Anja., Wahyu, W., Besty, M., Titi, C. K., Nisa, R., Hasrul, S. (2009). Isolasi Bakteri Selulolitik dan Karakterisasi Enzimnya. *Makara Sains*, 13 (1), 33-38.
- Miller, G. L. (1959). Use OD Donitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal.Chem.* 31.
- Moore, Landecker, E. 1990. *Fundamentals of The Fungi*. Fourth Edi: Prentice.
- Murtiyaningsih, Hidayah & Muhammad Hazmi. (2017). Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Bakteri Selulolitik Asal Tanah Sampah. *Agritrop*, 15 (2).
- Musita, Nanti. (2018). Kajian Sifat Fisikokimia Tepung Onggok Industri Besar dan Industri kecil. *Majalah Teknologi Agro Industri (Tegi)*, 10 (1).
- Nababan, M., Ida, B. G. W. G., I Made, M. M. W. (2019). Produksi Enzim Selulase Kasar dari Bakteri Selulolitik. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7 (2), 190-199.
- Nimisha, P., Moksha, S., & Gangawane, A. K. (2019). Amylase Activity of Strach Degrading Bacteria Isolated from Soil. *International Journal of Current Mikroiology and Applied Sciences*, 8 (04), 659-671.
- Nofu, Krispina., Siti, K., Irwan, L., (2014). Isolasi dan Karakteristik Bakteri Pendegradasi Selulosa pada Ampas Tebu Kuning (*Bagasse*). *Jurnal Probiont*, 3 (1), 25-33.
- Nurchayyo, H. (2011). *Diktat Bioteknologi*. Yogyakarta: Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY.
- Ochman, H., Lerat, E., & Daubin, V. (2005). Examining Bacterial Species Under the Specter of Gene Transfer and Exchange. *Systematics and the Origin of Species: On Ernst Mayr's 100th Anniversary*, 102, 229-242.
- Oktavia, Y., Lestari, S. D., Lestari, S., Herpandi, H., & Jannah, M. (2018). Optimasi Waktu Inkubasi Produksi Protease dan Amilase Isolat Bakteri Asal Terasi Ikan Teri *Stolephorus* sp. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 10 (3), 719-726.
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. S. (1986). *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI.
- Perez, J., Munoz, Dorado, J., Rubia, T., Martinez, J. (2002). Biodegradation and Biological Treatments of Cellulose, Hemicellulose and Lignin: *an overview*. *Int. Microbiol*, 5, 53-63.
- Poedjiadi, Anna & F. M Titin, S. (2005). *Dasar-Dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Poernomo AT., & Joko DA. (2003). Uji Aktivitas Crude Enzim Proteolitic *Bacillus subtilis* FNCC 0059 Hasil Fermentasi Curah. *Majalah Farmasi Erlangga*, 3, 103-107.
- Pratita, M. Y., & Putra, S. R. (2012). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Mata Air Panas di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi. *Jurnal Teknik Pomits*, 1:1-5.

- Pratiwi, R., Driyanti, R., Melisa, I. B., (2016). Pemanfaatan Selulosa dari Limbah Jerami Padi (*Oryza sativa*) sebagai Bahan Bioplastik. *IJPST*, 3(3).
- Prihatiningrum, AE. (2002). Pengaruh Pengaturan Suhu dan Macam Bakteri terhadap Hidrolisis Limbah Padat Pabrik Gula. *Berkala Penelitian Hayati*. Penerbit PBI, Jawa Timur.
- Prima, A., Silvera, D., Saryono. (2015). Optimalisasi pH Produksi Enzim Selulase dari Bakteri Endofitik *Pseudomonas stutzeri* LBKURCC45, *Pseudomonas cepacia* LBKURCC48 dan *Pseudomonas stutzeri* LBKURCC59. *JOM FMIPA*, 2 (1).
- Purkan, P., Azizah, B., Baktir, A., & Sumarsih, S. (2014). Eksplorasi Bakteri Kitinolitik dari Sampah Organik. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Kitinase. *Molekul*, 9 (2/, 128-135.
- Puspaningsih, N. N. T., Hery, S., Sri, S., Ali, R. & One, A. (2007). Hidrolisis Beberapa Jenis Xilan dengan Enzim Xilanolitik Termofilik Rekombinan. *Berk Penel Hayati.*, 12, 191-194.
- Putri, Syarafina. (2016). Karakterisasi Enzim Selulase yang Dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum* pada Variasi Suhu, Ph dan Konsentrasi Substrat. *Skripsi*. Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Malang.
- Radji, M. 2011. *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Rahmiati, F., Grace A. & Emilius, G. (2019). Pelatihan Pemanfaatan Limbah Padi Menjadi Arang Sekam untuk Menambah Pendapatan Petani. *Jurnal Ilmiah Pengabdian kepada Masyarakat*, 5 (2).
- Rao, Subba. (1994). *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman Edisi Kedua*. Jakarta: UI Press.
- Razie, Fakhru., Anas, I., Atang, S., Lukman, G., & Sugiyanta. (2011). Aktivitas Enzim Selulase Mikroba yang Diisolasi dari Jerami Padi di Persawahan Pasang Surut di Kalimantan Selatan. *J. Tanah Lingk*, 13 (2), 43-48.
- Reese, E. T. (1976). *History of Cellulase Program at U.S. Army Natick Development Center*. *Biotech & Bioeng.*
- Rodwell, V. W. (2011). *Harper's Review of Biochemistry*. Jakarta: EG Kedokteran.
- Sabbathini, G. C., Sri, P., Wijanarka, & Puspita, L. (2017). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Genus *Sphingomonas* dari Daun Padi (*Oryza Sativa*) di Area Persawahan Cibinong. *Jurnal Biologi*, 6 (1), 59-64.
- Saha, B. C. (2004). Lignocellulose Biodegradation and Application in Biotechnology. US Government Work. *American Chemical Society*, 2 (14).
- Salma, S. & Gunarto, L. (1999). Enzim Selulase dari *Trichoderma* sp. *Agro Biology*, 2, 9-16.
- Sarker, S. D. & Nahar, L. (2007). *Kimia untuk Mahasiswa Farmasi Bahan Organik, Alam dan Umum*. (Ed.). Rohman. Yogyakarta: Penerbit Pustaka Pelajar.
- Sembiring, Albert. (2019). Isolasi dan Uji Aktivitas Bakteri Penghasil Selulase Asal Tanah Kandang Sapi. *Jurnal Biology Science & Education*, 6 (1).
- Shihab, M. Quraish. (2002). *Tafsir Al-Misbah*. Jakarta: Lentera Hati.
- Sianturi., C. D. (2008). Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar dari Sumber Air Panas Panen Sibirubiru Sumatra Utara. *Tesis*. Sekolah Pascasarjana, USU.

- Song, Y., Zhou J., Zhang, L., Wu, X. (2008). Homogenous Modification of Cellulose with Acrylamide in NaOH or Urea Aqueous Solutions. *Carbohydrate Polymers*, 73, 18-25.
- Suhartanti, M., Sarjono, P. R., & Aminin, A. L. N. (2010). Studi Filogeni dan Uji Potensi Enzim Ekstraseluler Isolat *Alicyclobacillus* sp. Gedong Songo. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 13 (3), 80-87.
- Suhartono, M. T. (1992). *Protease*. Depdikbud, DIKTI, PAU Institut Pertanian Bogor. Bogor, 154 hlm.
- Sukmawati. (2018). Isolasi Bakteri Selulolitik dari Limbah Kulit Pisang. *Biotropic The Journal of Tropical biology*. 2 (1).
- Sukumaran, R. K., Singhanian, R. R. & Pandey, A. (2005). Microbial Celluloses Production, Application and Challenges. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 65, 832-844.
- Supriyati. (2003). Onggok Terfermentasi dan Pemanfaatannya dalam Ransum Ayam Ras Pedaging. *JITV*, 8(3), 146-150.
- Supriyatna, Ateng., Ida, R, Yani, S., Sumiyati, S. (2012). Isolation and Identification of Cellulolytic Bacteria From Waste Organic Vegetables and Fruits for Role in Making Materials Biogas. *Biology Departement The Faculty of Science and Technology State Islamic University SGD*. (4), 1-2.
- Suriawiria, U. (2005). *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Papas Sinar Sinanti.
- Tommy, A., Mukhlis., Benny, H. (2014). Karakteristik Biologi dan Kimia Tanah Sawah Akibat Pembakaran Jerami. *Jurnal Online Agroekoteknologi*, 2 (2), 851-864.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., Case, C. L. (2001). *Microbiology an Introduction 7th Edition*. United States America: Addison Wesley Longman.
- Ulfa, A., Siti, K. & Riza, L. (2014). Kemampuan Degradasi Selulosa oleh Bakteri Selulolitik yang Diisolasi dari Tanah Gambut. *Jurnal Protobiont*, 3 (2), 259-267.
- Wahyuni, D. (2017). Karakteristik Morfologi dan Uji Aktivitas Bakteri Termofilik yang Terdapat di kawasan Wisata IE Seuum Kecamatan Mesjid Raya sebagai Penunjang Praktikum Mikrobiologi. *Skripsi*. UIN Ar-Raniry Aceh.
- Waluyo, Lud. (2019). *Mikrobiologi Umum*. Malang: UMM Press.
- Winarno, F. G. (2002). *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Yasin, M. N. (2017). Screening Bakteri Penghasil Amilase dari Sedimen Sumber Air Panas Dondang Muara Jawa. *Jurnal Atomik*, 02 (2), 213-215.
- Yusnia, E. D., Ida, B. W. G., Nyoman, S. A. (2019). Isolasi dan Skrining Bakteri Selulolitik dari Beberapa Tanah Hutan di Bali. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7 (1), 11-20.
- Zhang, Y., Himmel, M. & Mielenz, J. (2006). Outlook for Cellulose Improvement: Screening and Selecton Strategis. *Biotechnology Advances*, 24 (5).
- Zugenmaier, P. (2008). Crystalline Cellulose and Derivatives. Heidelberg: *Springer Verlag*, 2, 7-8.
- Zverlova VV., Holl W. & Schwarz H. (2003). Enzymes for Digestion of Cellulose and Other Polysaccharides in the Gut of Longhorn Beetle Larvae *Rhaginum inquisitor* L (Col., Cerambycidae). *Inter Biodet Biodeg*. (51). 175-179.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian



Lampiran 2. Aktivitas Bakteri Selulolitik

1. Hasil Pengukuran Zona Bening

Kode Isolat	Diameter ZB (A)	Diameter Koloni (B)	(A-B)/B	Rasio
JR 1	$\frac{0,6+1,0}{2} = 0,8$	$\frac{0,25+0,15}{2} = 0,4$	0,10	Rendah
JR 2	$\frac{2,3+1,7}{2} = 2,0$	$\frac{0,6+0,4}{2} = 0,5$	0,30	Rendah
JR 3	$\frac{6,8+7,6}{2} = 7,2$	$\frac{3,9+3,5}{2} = 3,7$	0,94	Sedang
JR 4	$\frac{2,8+4,4}{2} = 3,6$	$\frac{4,1+1,3}{2} = 2,7$	0,34	Rendah
JR 5	$\frac{4,2+1,0}{2} = 2,6$	$\frac{0,1+1,8}{2} = 1,45$	0,79	Sedang

2. Perhitungan Indeks Selulolitik

Contoh perhitungan pada isolat JR 3 dan JR 5 menggunakan rumus:

$$\text{Indeks Selulolitik} = \frac{\bar{X} \text{ Diameter Zona Bening} - \bar{X} \text{ Diameter Koloni Bakteri}}{\bar{X} \text{ Diameter Koloni Bakteri}}$$

$$\text{Indeks Selulolitik JR 3} = \frac{7,2 - 3,7}{3,7} = 0,94 \text{ cm}$$

$$\text{Indeks Selulolitik JR 5} = \frac{2,6 - 1,45}{1,45} = 0,79 \text{ cm}$$

Lampiran 3. Aktivitas Enzim Selulase

1. Pembuatan Larutan Standar Glukosa

Cara membuat larutan stok glukosa 1000 ppm:

$$1000 \text{ ppm} = \frac{1000 \text{ mg}}{1\text{L}} = \frac{0,1 \text{ gr}}{100 \text{ mL}}$$

Konsentrasi		Akuades (ml)	Larutan stok standar glukosa (ml)
ppm	mg/ml		
0	0.00	2.00	0.00
50	0.05	1.90	0.10
100	0.10	1.80	0.20
150	0.15	1.70	0.30
200	0.20	1.60	0.40
250	0.25	1.50	0.50
300	0.30	1.40	0.60

2. Hasil Absorbansi Larutan Standar Glukosa

Konsentrasi Glukosa	Absorbansi			
	I	II	III	Rata-rata
0	0,072	0,135	0,087	0,098
50	0,298	0,451	0,250	0,333
100	0,694	0,436	0,481	0,537
150	0,793	0,819	0,545	0,719
200	0,965	0,815	0,821	0,867
250	1,123	1,032	1,034	1,063
300	1,151	1,429	1,002	1,194

3. Hasil Absorbansi Ekstrak Kasar Enzim pada Berbagai Substrat

Substrat	Absorbansi		
	I	II	III
Bekatul	0,530	0,328	0,471
Dedak	0,946	0,416	0,918
Onggok	0,185	0,226	0,186

4. Perhitungan kadar gula reduksi

Persamaan regresi $y = ax + b$

$$y = 0,0036x + 0,1432$$

$$\text{sehingga } x = \frac{y - 0,1432}{0,0036}$$

y = absorbansi

x = konsentrasi glukosa

$$\text{Aktivitas Enzim} = \frac{C}{\text{BM glukosa} \times t} \times \frac{H}{E}$$

Keterangan:

Konsentrasi glukosa (C)

Waktu inkubasi (t) : 60 menit

Berat molekul glukosa : 180

H (Volume total enzim-substrat) : 2 mL

E (Volume enzim) : 1 mL

- Contoh Perhitungan pada Substrat Bekatul Ulangan I

$$x = \frac{0,530 - 0,1432}{0,0036} = 107,4$$

$$x = 107,4 \text{ ppm}$$

Aktifitas Ekstrak Kasar Enzim dari Substrat Bekatul Ulangan I

$$\frac{107,4}{180 \times 60} \times \frac{2}{1} = 198 \times 10^{-4} \text{ U/mL}$$

- Contoh Perhitungan pada Substrat Bekatul Ulangan II

$$x = \frac{0,328 - 0,1432}{0,0036} = 51,3$$

$$x = 51,3 \text{ ppm}$$

Aktifitas Ekstrak Kasar Enzim dari Substrat Bekatul Ulangan II

$$\frac{51,3}{180 \times 60} \times \frac{2}{1} = 95 \times 10^{-4} \text{ U/mL}$$

- Contoh Perhitungan pada Substrat Bekatul Ulangan III

$$x = \frac{0,471 - 0,1432}{0,0036} = 91,0$$

$$x = 91,0 \text{ ppm}$$

Aktifitas Ekstrak Kasar Enzim dari Substrat Bekatul Ulangan III

$$\frac{91,0}{180 \times 60} \times \frac{2}{1} = 168 \times 10^{-4} \text{ U/mL}$$

Satu unit aktivitas selulase dinyatakan dengan banyaknya mikro mol glukosa yang dihasilkan oleh 1 mL ekstrak kasar selulase per 60 menit pada kondisi tertentu, sehingga aktifitas yang diperoleh masing-masing ulangan adalah 198×10^{-4} , 95×10^{-4} , dan 168×10^{-4} U/mL sehingga di rata-rata diperoleh hasil $153,6 \times 10^{-4}$. Data konsentrasi gula reduksi dan aktifitas ekstrak kasar ditunjukkan pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Nilai Konsentrasi Gula Reduksi dan Aktifitas Enzim pada Berbagai Substrat

Substrat	Ulangan I		Ulangan II		Ulangan III		Rata-rata
	Konsentrasi (ppm)	Aktifitas (U/mL)	Konsentrasi (ppm)	Aktifitas (U/mL)	Konsentrasi (ppm)	Aktifitas (U/mL)	
Bekatul	107,4	198×10^{-4}	51,3	95×10^{-4}	91,0	168×10^{-4}	$153,6 \times 10^{-4}$
Dedak	223,0	412×10^{-4}	75,7	140×10^{-4}	215,2	398×10^{-4}	316×10^{-4}
Onggok	11,6	21×10^{-4}	23,0	42×10^{-4}	11,8	21×10^{-4}	28×10^{-4}

Lampiran 4. Analisis Statistika Aktivitas Selulolitik

1.

ANOVA

ulangan					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.985	4	.246	4.923E3	.000
Within Groups	.000	5	.000		
Total	.985	9			

2.

ulangan

Duncan

perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
jr1	2	.105				
jr2	2		.295			
jr4	2			.345		
jr5	2				.785	
jr3	2					.935
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						

Lampiran 5. Analisis Statistik Aktivitas Enzim Selulase pada Berbagai Substrat

1.

ANOVA					
Ulangan					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.001	2	.001	7.139	.026
Within Groups	.001	6	.000		
Total	.002	8			

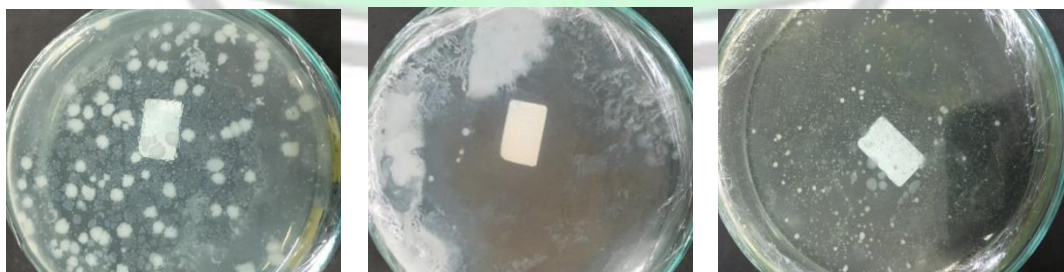
2.

Ulangan			
Duncan			
perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Onggok	3	.002800	
Bekatul	3	.015367	.015367
Dedak	3		.031667
Sig.		.152	.077

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Lampiran 6. Dokumentasi

1. Hasil Isolasi Bakteri dari Jerami Padi

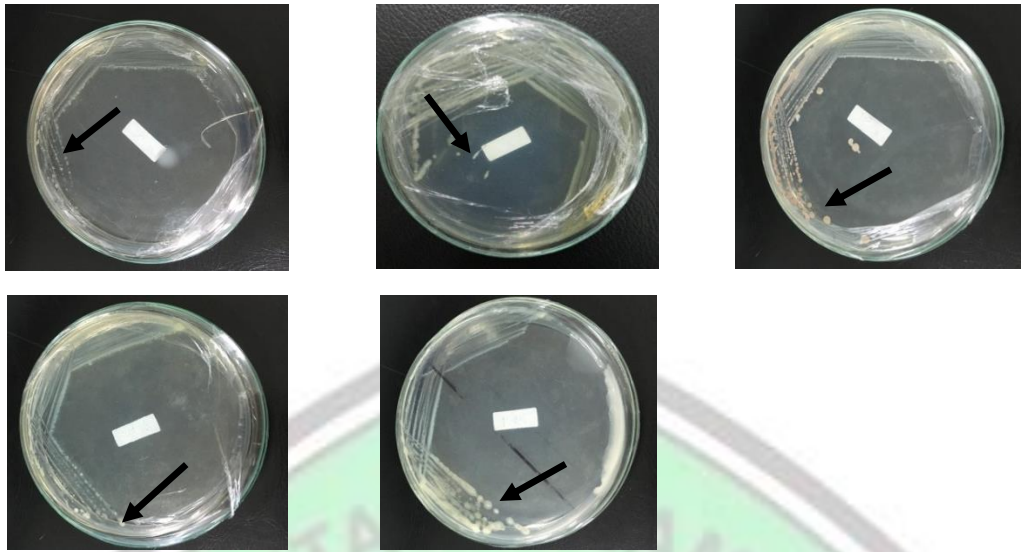


Pengenceran 10^{-8}

Pengenceran 10^{-9}

Pengenceran 10^{-10}

2. Pengamatan Makroskopis



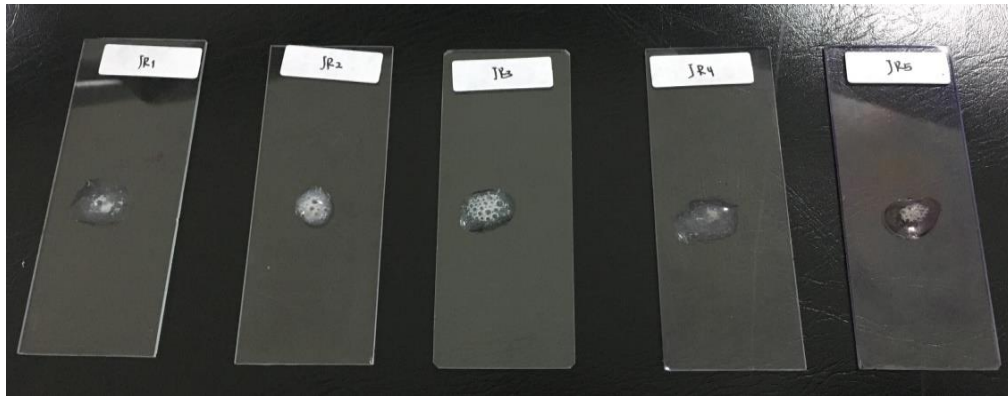
3. Peremajaan Bakteri



4. Pengamatan Zona Bening



5. Pengamatan Uji Katalase



6. Pembuatan Kurva Standar Glukosa



7. Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Berbagai Substrat



8. Lain-lain





KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Munawaratun Nadhifah
NIM : 16620078
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2020/2021
Pembimbing : Ir. Liliek Haranie, AR. M.P.
Judul Skripsi : Isolasi Bakteri Selulolitik dari Jerami Padi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Berbagai Substrat

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	13 Januari 2020	Konsultasi Judul	
2.	4 Februari 2020	Revisi Judul & Konsultasi BAB I	
3.	28 Februari 2020	Revisi BAB I, Konsultasi BAB II & BAB III	
4.	6 Maret 2020	Revisi BAB I, BAB II, & BAB III	
5.	25 Mei 2020	ACC BAB I, BAB II, & BAB III	
6.	24 Juni 2020	Revisi Hasil Seminar Proposal	
7.	31 Maret 2021	Konsultasi BAB IV	
8.	26 April 2021	Revisi BAB IV & Konsultasi BAB V	
9.	30 April 2021	Revisi BAB IV dan V	
10.	4 Mei 2021	ACC Naskah Lengkap	

Pembimbing Skripsi,

Ir. Liliek Haranie, AR. M.P.
NIP. 19620901 199803 2 001

Malang, 4 Mei 2021
Ketua Program Studi

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P.
NIP. 19741018 200312 2 002



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Malang 65144 Telp (0341) 558933, Fax. (0341) 558933

KARTU KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Munawaratun Nadhifah
NIM : 16620078
Program Studi : S1 Biologi
Semester : Genap TA 2020/2021
Pembimbing : Oky Bagas Prasetyo, M.PdI
Judul Skripsi : Isolasi Bakteri Selulolitik dari Jerami Padi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase pada Berbagai Substrat

No	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	3-Mar-2020	Integrasi BAB I	
2.	9-Mar-2020	Revisi Integrasi BAB I	
3.	18-Mei-2020	ACC Integrasi BAB I	
3.	22-Jun-2020	Revisi Integrasi Hasil Seminar Proposal	
4.	6-Apr-2021	Integrasi BAB IV	
5.	8-Apr-2021	ACC Integrasi BAB IV	

Pembimbing Skripsi,

Oky Bagas Prasetyo, M.Pd.I
NIDT.19890113201802011244

Malang, 4 Mei 2021
Ketua Program Studi,

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP.197410182003122002